This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.
+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.
+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.
+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

Acerca de este libro

Esta es una copia digital de un libro que, durante generaciones, se ha conservado en las estanterías de una biblioteca, hasta que Google ha decidido escanearlo como parte de un proyecto que pretende que sea posible descubrir en línea libros de todo el mundo.

Ha sobrevivido tantos años como para que los derechos de autor hayan expirado y el libro pase a ser de dominio público. El que un libro sea de dominio público significa que nunca ha estado protegido por derechos de autor, o bien que el período legal de estos derechos ya ha expirado. Es posible que una misma obra sea de dominio público en unos países y, sin embargo, no lo sea en otros. Los libros de dominio público son nuestras puertas hacia el pasado, suponen un patrimonio histórico, cultural y de conocimientos que, a menudo, resulta difícil de descubrir.

Todas las anotaciones, marcas y otras señales en los márgenes que estén presentes en el volumen original aparecerán también en este archivo como testimonio del largo viaje que el libro ha recorrido desde el editor hasta la biblioteca y, finalmente, hasta usted.

Normas de uso

Google se enorgullece de poder colaborar con distintas bibliotecas para digitalizar los materiales de dominio público a fin de hacerlos accesibles a todo el mundo. Los libros de dominio público son patrimonio de todos, nosotros somos sus humildes guardianes. No obstante, se trata de un trabajo caro. Por este motivo, y para poder ofrecer este recurso, hemos tomado medidas para evitar que se produzca un abuso por parte de terceros con fines comerciales, y hemos incluido restricciones técnicas sobre las solicitudes automatizadas.

Asimismo, le pedimos que:

+ *Haga un uso exclusivamente no comercial de estos archivos* Hemos diseñado la Búsqueda de libros de Google para el uso de particulares; como tal, le pedimos que utilice estos archivos con fines personales, y no comerciales.

+ *No envíe solicitudes automatizadas* Por favor, no envíe solicitudes automatizadas de ningún tipo al sistema de Google. Si está llevando a cabo una investigación sobre traducción automática, reconocimiento óptico de caracteres u otros campos para los que resulte útil disfrutar de acceso a una gran cantidad de texto, por favor, envíenos un mensaje. Fomentamos el uso de materiales de dominio público con estos propósitos y seguro que podremos ayudarle.

+ *Conserve la atribución* La filigrana de Google que verá en todos los archivos es fundamental para informar a los usuarios sobre este proyecto y ayudarles a encontrar materiales adicionales en la Búsqueda de libros de Google. Por favor, no la elimine.

+ *Manténgase siempre dentro de la legalidad* Sea cual sea el uso que haga de estos materiales, recuerde que es responsable de asegurarse de que todo lo que hace es legal. No dé por sentado que, por el hecho de que una obra se considere de dominio público para los usuarios de los Estados Unidos, lo será también para los usuarios de otros países. La legislación sobre derechos de autor varía de un país a otro, y no podemos facilitar información sobre si está permitido un uso específico de algún libro. Por favor, no suponga que la aparición de un libro en nuestro programa significa que se puede utilizar de igual manera en todo el mundo. La responsabilidad ante la infracción de los derechos de autor puede ser muy grave.

Acerca de la Búsqueda de libros de Google

El objetivo de Google consiste en organizar información procedente de todo el mundo y hacerla accesible y útil de forma universal. El programa de Búsqueda de libros de Google ayuda a los lectores a descubrir los libros de todo el mundo a la vez que ayuda a autores y editores a llegar a nuevas audiencias. Podrá realizar búsquedas en el texto completo de este libro en la web, en la página `http://books.google.com`

B 3 863 740

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF CALIFORNIA.

RECEIVED BY EXCHANGE

BIOLOGY
LIBRARY
G

Class

TRABAJOS

DEL

LABORATORIO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

DE LA UNIVERSIDAD DE MADRID

(Continuación de la "Revista trimestral micrográfica,,)

PUBLICADOS POR

S. RAMÓN CAJAL

Director de dicho Laboratorio y Catedrático de Histología y Anatomía patológica de la Facultad de Medicina.

TOMO III

(VIII DE LA "REVISTA TRIMESTRAL,,)

LIBRARY OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA

MADRID

IMPRENTA Y LIBRERÍA DE NICOLÁS MOYA

Garcilaso, 6, y Carretas, 8.

1904

BIOLOGY
LIBRARY
G

UNIV. OF
CALIFORNIA

ÍNDICE

S. Ramón y Cajal: Algunos métodos de coloración de los cilindroejes, neurofibrillas y nidos nerviosos. 1
S. Ramón y Cajal: Variaciones morfológicas, normales y patológicas del retículo neurofibrilar (con 4 grabados). 9
Dr. G. Pittaluga: Observaciones morfológicas sobre los embriones de las filarias de los perros (*filaria immitis*, **Leidy**) (con un grabado). 17
S. Ramón y Cajal: El aparato tubuliforme del epitelio intestinal de los mamíferos (con 2 grabados). 35
F. Tello: Disposición macroscópica y estructura del cuerpo geniculado externo (con 7 grabados) 39
S. Ramón y Cajal: Asociación del método del nitrato de plata con el embrionario para el estudio de los focos motores y sensitivos (con 12 grabados). 65
S. Ramón y Cajal: Contribución al estudio de la estructura de las placas mótrices (con 3 grabados). 97
D. Sánchez: Un sistema de finísimos conductos intraprotoplásmicos hallado en las células del intestino de algunos isópodos (con 6 grabados). 101
F. Tello: Las neurofibrillas en los vertebrados inferiores (con 20 grabados). 113
P. Ramón y Cajal: Origen del nervio masticador en las aves, reptiles y batracios (con 6 grabados). 153
R. Turró y A. Pi y Suñer: Mecanismo fisiológico de la inmunidad natural. 163
S. Ramón y Cajal: El retículo neurofibrillar en la retina (con un grabado y una lámina litografiada). 185
S. Ramón y Cajal y D. Dalmacio García: Las lesiones del retículo de las células nerviosas en la rabia (con 28 grabados). 213
F. Murillo: Nuevo procedimiento de atenuación y nueva vacuna anti-carbuncosa (con 2 grabados). 267
S. Ramón y Cajal: Neuroglia y neurofibrillas del *Lumbricus* (con 4 grabados) 277
S. Ramón y Cajal: Variaciones morfológicas del retículo nervioso de invertebrados y vertebrados sometidos á la acción de condiciones naturales (nota preventiva) (con 5 grabados). 287

232202

UNIV. OF CALIFORNIA

ALGUNOS MÉTODOS DE COLORACION DE LOS CILINDROS-EJES

NEUROFIBRILLAS Y NIDOS NERVIOSOS

POR

S. RAMÓN Y CAJAL

Hace tres años describimos (1) un procedimiento de coloración de los axones, basado en la acción del nitrato de plata alcalino sobre las piezas induradas en una solución de formol con hidroquinona. También Fajersztajn (2) y Bielshowsky (3) han publicado procedimientos más ó menos eficaces é inconstantes de impregnación argéntica de las expansiones nerviosas, fundados en la propiedad reductriz del formol sobre el nitrato de plata amoniacal. Pero todos estos métodos son engorrosos, complicados y además exigen en el operador mucha pericia y una atención extrema; por cuyos inconvenientes no han podido entrar en la práctica corriente como el de Weigert ó de Nissl.

Según resulta de experimentos recientes, consíguense mucho mejores coloraciones, y con superior regularidad y constancia, apelando á una pequeña modificación de nuestro método del nitrato de plata reducido. Ello consiste esencialmente en fijar primeramente las piezas en alcohol, con ó sin adición de amoníaco, y someterlas después al nitrato de plata y á la reducción en bloque.

Los resultados que se obtienen varían algo, según el procedimiento de fijación preliminar, es decir, según que se utilice á este fin el alcohol puro, el alcohol amoniacal ó el formol alcalino.

La fijación en alcohol solo (primera fórmula) tiñe muy bien en café

(1) *S. R. Cajal*: *Pequeñas comunicaciones técnicas. Rev. trim. microgr.*, tomo V, 1900.

(2) *Fajersztajn*: Ein neues Silverimprägnationsverfahren als Mittel zur Farbung der Axencylinder. *Neurol. Centralbl.* Febr. 1901.

(3) *Bielshowsky*: Die Silverimprägnation der Neurofibrillen. *Neurol. Centralbl.*, n° 22, 1 Nov. 1903. — Véase también: *Neurol. Centralbl.*, 1892.

obscuro todos los axones medulados gruesos y finos; la obtenida en alcohol débilmente amoniacal, colorea especialmente los axones finos y fibrillas no meduladas, amén de las neurofibrillas; en fin, la debida al formol alcalinizado, impregna predilectamente las ramificaciones nerviosas terminales. Por consiguiente, la aplicación á un mismo órgano nervioso de estos tres fijadores, así como del método ordinario revelador de las neurofibrillas, nos dará una imagen cabal y completa de la totalidad de los factores nerviosos constitutivos de la substancia gris y blanca.

PRIMERA FÓRMULA Ó PROCEDIMIENTO PARA COLOREAR LOS AXONES MEDULADOS Y NEUROFIBRILLAS DE LAS NEURONAS MOTRICES

1.° Piezas nerviosas que no pasen de medio centímetro de espesor, son induradas, por veinticuatro horas, en alcohol de 40° (Cartier).

2.° Reducidas á la mitad de su espesor (2 milímetros ó 2 y medio), y tras algunos minutos de lavado en agua destilada, se inmergen en solución de nitrato de plata al 1'50 por 100, conservada en estufa de 30 á 35°. De ordinario permanecen las piezas en este líquido cuatro días, tiempo que podrá variar, según el tamaño de los trozos nerviosos. Así, los muy pequeños tendrán bastante con tres días; los mayores permanecerán unos cinco, á fin de que el nitrato pueda llegar hasta el centro de la trama nerviosa.

Decimos lo mismo de la densidad del baño argéntico. Para pocas y diminutas piezas, será bueno no pasar del 1 por 100; bloques numerosos ó espesos exigirán el 1'50 y á veces más.

3.° Previo rápido lavado (por algunos segundos) en agua destilada, se abandonan las piezas, durante veinticuatro horas, en este baño reductor.

Acido pirogálico ó hidroquinona (1).....	1 ó 2 gramos.
Agua.....	100 cent. cúb.
Formol.....	5 —
Sulfito de sosa anhidro.....	de 0'25 á 0'50 gramos.

Cuando se trate del cerebro ó cerebelo, será conveniente aumentar la dosis de sulfito (que aquí obra como álcali débil) llegando al gramo ó más aún. Por lo demás, un baño de ácido pirogálico puro ó de hidroquinona sola, produce también buenos resultados, pero nos ha parecido que la reacción no es tan fina ni da fondos tan claros y limpios.

4.° Lavado rápido en agua, deshidratación, inclusión en celoidina, sec-

(1) La hidroquinona suele dar impregnaciones algo más enérgicas que el ácido pirogálico. En cuanto al sulfito, téngase en cuenta que cuanta mayor cantidad de él se añada, más pálida, aunque más fina, será la impregnación.

ciones microtómicas, etc. Evítese la esencia de bergamota, pues debilita y aun hace desaparecer la impregnación.

5.° Si los cortes centrales de la pieza aparecen teñidos de un rojo demasiado claro, no vacilaremos en emplear un viraje fotográfico al oro. Nosotros usamos de preferencia la fórmula tan conocida de la mezcla de sulfocianuro de amonio y cloruro de oro, terminando con un lavado en hiposulfito de sosa, y, finalmente, en agua destilada. Merced al viraje, el tono rojo ó café claro se convierte en negro, aumentando notablemente el contraste entre las fibras y el fondo (1).

Además de los axones colorea este procedimiento las neurofibrillas de las neuronas grandes (algo menos finamente que el método ordinario) y ciertas arborizaciones pericelulares gruesas, tales como las cestas de los corpúsculos de Purkinje del cerebelo. Pero la reacción más valiosa es la de los axones, que se presentan perfectamente coloreados en rojo café (ó negro puro después del virado), inclusas las estrangulaciones, al nivel de las cuales la fibra se adelgaza notablemente palideciendo algo. Esta valiosa propiedad de teñir las estrangulaciones y bifurcación de los axones (por ejemplo, las bifurcaciones de las raíces posteriores) da á este método una gran superioridad sobre todos los propuestos hasta aquí para el teñido de las fibras nerviosas en el adulto, ya que ninguno de ellos muestra á un tiempo impregnados los segmentos interanulares y estrangulaciones, apareciendo comunmente el axon interrumpido al nivel de sus divisiones. Y si bien es cierto que un efecto parecido se obtiene con los métodos de Ehrlich y el de Kronthal, también lo es que lo inseguro y fragmentario de la reacción priva á tales procederes de ser aplicados con regularidad al estudio de la distribución y marcha de las fibras nerviosas en los centros. En nuestros preparados de la médula espinal aparecen completamente teñidos todos los axones medulados, y nada es, por consiguiente, más fácil que seguir hasta su destino (en un corte grueso ó en una serie de secciones finas) un cilindro-eje radicular, comisural ó funicular.

Este método es aplicable también á la médula y bulbo de los animales recién nacidos y jóvenes, en los cuales da expléndidas impregnaciones de los axones, colaterales nerviosos y neurofibrillas de las neuronas motrices.

Curiosos efectos de la prolongación de la acción del alcohol.—En general, el tiempo de acción más conveniente del fijador alcohólico para la colo-

(1) Para abreviar la operación del virado, usamos á menudo esta fórmula: agua, 100 gramos; sulfocianuro de amonio, 3; hiposulfito de sosa, 3. A 10 cent. cúb. de esta solución se añaden, en el momento de usarla, unas gotas de solución de cloruro de oro al 1 por 100.

ración de los axones, es de doce á veinticuatro horas. Continuando la fijación dos ó tres días, los gruesos axones medulados de la médula espinal, bulbo y cerebro, comienzan á palidecer y á los cuatro ó cinco días ya no se colorean. En cambio se consiguen muy bellas impregnaciones de las fibrillas nerviosas ameduladas, y singularmente de las mazas terminales y plexos pericelulares, los cuales resaltan muy bien sobre las células teñidas de rojo claro ó amarillo. Las neurofibrillas aparecen pálidamente impregnadas de naranja ó rojo claro.

Esta modificación, en apariencia insignificante, constituye un método valiosísimo para la coloración de todas las fibras ameduladas y arborizaciones pericelulares de la médula, bulbo, cerebelo, etc. El tiempo óptimo de acción del alcohol nos ha parecido ser de tres días.

FÓRMULA SEGUNDA Ó PROCEDIMIENTO DE COLORACIÓN DE LAS FIBRAS AMEDULADAS Y DE LAS NEUROFIBRILLAS

1.° Las piezas, cuyo espesor no subirá de 3 $^1/_2$, se someten, por veinticuatro horas, á la acción de este indurante:

Alcohol de 40° (Cartier).....	100 cent. cúb.
Amoníaco desde.....	0'25 á 1 —

Si las piezas son algo gruesas ó voluminosas, no habrá inconveniente en prolongar por un día más la acción de este líquido.

2.° Lavado de las piezas, por algunos minutos, en agua destilada, que se renovará dos ó tres veces para descartar el exceso de alcohol amoniacal.

3.° Llévanse después al baño de nitrato de plata al 1'50, donde permanecerán en estufa á 30° ó 35°, de tres á cinco días.

4.° Reducción, por veinticuatro horas, en el baño de ácido pirogálico formólico (formol, 5 cent. cúb.; ácido pirogálico, 2; agua, 100), ó en un baño análogo de hidroquinona. De ordinario este reductor, añadido de un poco de sulfito de sosa, da más intensidad que el ácido pirogálico.

5.° Deshidratación, inclusión en celoidina ó parafina; secciones microtómicas, etc.

6.° Virado, en cloruro de oro, de los cortes más pálidos.

Las secciones superficiales exhiben á veces un precipitado irregular que no daña á la bondad de la selección, aunque sí á la belleza del preparado; así que se recogerán de preferencia los cortes algo más profundos exentos de estos depósitos. Sin embargo, si la cantidad de amoniaco no llega al cent. cúb. por 100, los precipitados son raros.

Los buenos preparados revelan, muy fina y bellamente teñidos en rojo, todos los axones finos medulados y la totalidad de las fibras ameduladas.

Por consecuencia de esta selección preferente y completa, la substancia gris exhibe un plexo nervioso tupidísimo, de cuya complicación y riqueza nada puede dar idea. La misma substancia blanca de la médula presenta una cantidad prodigiosa de fibras finas longitudinales ameduladas, cuya existencia hubiera sido imposible presumir examinando los mejores preparados de Weigert ó los cortes teñidos no importa con qué procedimiento selectivo de las ramificaciones nerviosas.

En el cerebelo, impregna espléndidamente en rojo las cestas terminales y un número extraordinario de axones y colaterales nerviosas.

En cuanto á las neurofibrillas, aparecen muy delgadas y algo pálidas, constituyendo haces situados entre los grumos cromáticos. A diferencia del método argéntico ordinario, la impregnación prefiere las neuronas grandes (motrices, intersticiales grandes del bulbo, pirámides gruesas del cerebro), cuyo retículo exhibe, de trecho en trecho, espacios claros correspondientes á los husos de Nissl. Los filamentos secundarios muéstranse demasiado finos y acaso rotos por la dilatación anormal provocada por el álcali en el cuerpo celular. En suma; en tales preparados, las neurofibrillas se presentan, como en los cortes de Bethe y Donaggio, con todas las ventajas é inconvenientes inherentes al empleo del amoníaco, que es un gran alterante.

El método del alcohol amoniacal es también aplicable á los embriones y animales jóvenes y recién nacidos, en los cuales tiñe admirablemente las neurofibrillas de las células grandes y todos los axones medulados y amedulados. En el perro y conejo recién nacidos y de algunos días, hemos logrado preparaciones soberbias donde los axones, intensamente teñidos, hasta en sus estrangulaciones podían seguirse cómodamente en todo su curso, sorprendiéndose sus bifurcaciones, etc.

TERCERA FÓRMULA Ó PROCEDIMIENTO DE COLORACIÓN DE LA PORCIÓN TERMINAL DE LAS FIBRAS NERVIOSAS

No proporciona este procedimiento resultados tan bellos y constantes como los anteriores; pero hay casos en que sus efectos son irreemplazables. Su especialidad consiste en la coloración de las cestas del cerebelo, las arborizaciones de las fibras musgosas, los plexos terminales y mazas nerviosas de la substancia gris, medular y bulbar, etc.

1.° Trozos de tejido nervioso se induran por veinticuatro horas (á lo más dos días), en este líquido:

Formol	25	cent. cúb.
Agua	100	—
Amoníaco, algunas gotas, lo más	0'50	—

2.° Las piezas, que adquieren cierta hinchazón y translucidez, se lavan en chorro continuo durante seis á doce horas, á fin de extraer completamente el formol y el amoníaco.

3.° Trasládanse después al nitrato de plata (solución desde el 1 al 3 por 100), donde permanecerán tres días en estufa.

4.° Reducción como en el procedimiento anterior.

5.° Deshidratación, inclusión en celoidina, secciones microtómicas, etc.

Al examen micrográfico, ninguna fibra medulada aparece, presentándose las células coloreadas en amarillo, con neurofibrillas alteradas y apenas perceptibles. El nucleolo, es decir, las esférulas de éste no atraen el metal, apareciendo vagamente indicadas. En cambio, *los cuerpos accesorios*, se colorean bien, mostrando que han resistido al amoníaco, circunstancia interesante que prueba una vez más que su composición química es diversa de la de los nucleolos. Las mazas y plexos nerviosos pericelulares tíñense de pardo ó negro, mostrándose algo retraídos y modificados por la acción del álcali.

En el cerebro se obtienen excelentes neurofibrillas de las pirámides grandes y medianas, sobre todo á cierta profundidad de las piezas, es decir, en aquellos parajes en que la acción amoniacal fué moderada.

En fin, como hemos dicho, las arborizaciones pericelulares de Purkinje, las fibras musgosas del cerebelo, las cestas de la oliva acústica, etc., suministran excelentes impregnaciones.

En vez del formol amoniacal puede usarse el formol sólo seguido de un buen lavado de las piezas. Los resultados son también excelentes, aunque algo diversos.

Lo que da á los referidos métodos un gran valor analítico para los estudios de anatomía patológica, es su gran regularidad y constancia, la facilidad de su empleo, la perfecta fijación de las piezas y, más que nada, la extensión de la reacción que en los trozos nerviosos no excedentes de 3 milímetros, alcanzan á la casi totalidad del tejido. Así, mientras en el método sin fijación la zona aprovechable de las piezas es más ó menos limitada, en el de la fijación alcohólica con ó sin adición amoniacal, consíguese aprovechar todos los cortes, menos los dos ó tres primeros demasiado impregnados, sin otra molestia que virar en el baño de oro (operación rápida y sencillísima) las secciones algo pálidas correspondientes á las regiones profundas. Con todo eso, no olvidemos que si el método sin fijación (método ordinario) no colorea tan bellamente las fibras nerviosas, tiñe admirablemente las neurofibrillas primarias y secundarias de las células medianas y pequeñas de todos los centros nerviosos, siendo bajo este aspecto irreemplazable.

Los procederes del alcohol prefieren el armazón de las células grandes

é impregnan demasiado débilmente los filamentos secundarios, por cuyo motivo no deberán emplearse sino para el análisis de las neurofibrillas de las células motrices ó funiculares grandes, así como para la determinación de la marcha de los axones y modo de terminación de las fibras amedulladas.

Los dos citados métodos por el alcohol, así como la modificación al primero, consistente en prolongar el tiempo de acción del fijador, los hemos empleado con satisfactorio éxito en la anatomía patológica de diversas enfermedades nerviosas, á saber: degeneración walleriana de células sensitivas y motrices, rabia, tétanos, esclerosis, difteria, etc. Estas investigaciones, en curso de ejecución todavía, formarán varias Monografías.

Madrid 10 de Febrero de 1904.

VARIACIONES MORFOLÓGICAS, NORMALES Y PATOLÓGICAS

DEL RETÍCULO NEUROFIBRILAR

POR

S. RAMÓN Y CAJAL

A guisa de nota preventiva y en espera de la terminación de experiencias de contraprueba en vías de ejecución, vamos á consignar dos hechos interesantes: la variación del retículo celular en los animales afectos de rabia, y las modificaciones notabilísimas del mismo en algunos animales invernantes.

Conejo y perro rabiosos. Estudiando recientemente médulas y cerebros de estos animales, previa coloración con el método del nitrato de plata reducido, hemos sorprendido, entre otras lesiones que en su día se expondrán detalladamente, una muy singular (1). El retículo de las neuronas medulares funiculares hállase como simplificado, mostrándose, con extraordinaria evidencia, teñidos en negro, unos pocos filamentos primarios y numerosos hilos secundarios dispuestos en red. Lo notable del caso es que los hilos primarios aparecen provistos de espesamientos fusiformes, colosales y prolongados, á cuyo término aparecen bifurcaciones y anastomosis con la red de fila-

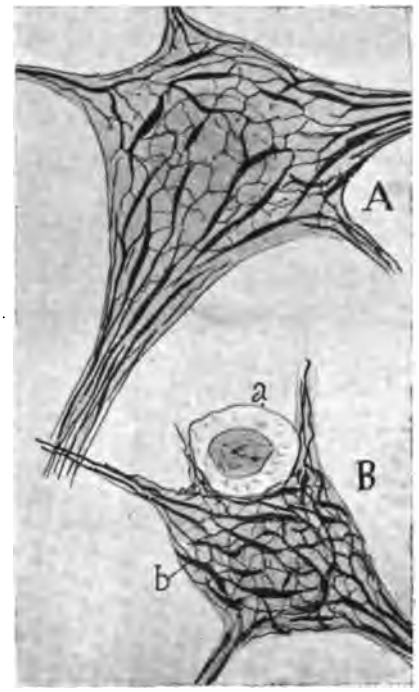


Fig. 1. — Células funiculares de la médula del conejo muerto de rabia experimental. *a*, corpúsculo neuróglico; *b*, neurofibrilla espesada.

(1) Las preparaciones á que aludimos han sido ejecutadas en el perro y conejo rabiosos por el Profesor de la Escuela de Veterinaria D. Dalmacio García. En breve publicaremos un trabajo detallado sobre este tema. En la médula espinal los mejores preparados se obtienen con la fórmula primera (induración en alcohol puro).

mentos secundarios. Cosa análoga ocurre con las pirámides cerebrales y corpúsculos del asta de Ammon, cuya red hállase como oprimida en sentido radial por la presión de corpúsculos neuróglicos pericelulares, exhibiendo robustos y escasos filamentos primarios. En fin, la existencia de hilos enreciados y como retraídos aparece también en los ganglios (plexo gangliforme del vago). Por cierto que esta lesión da al retículo un parecido singular con el descubierto recientemente por Tello en los reptiles.

En la fig. 1 presentamos la citada alteración del retículo llevada á su máximo desarrollo, es decir, tal como se presenta en la médula y bulbo

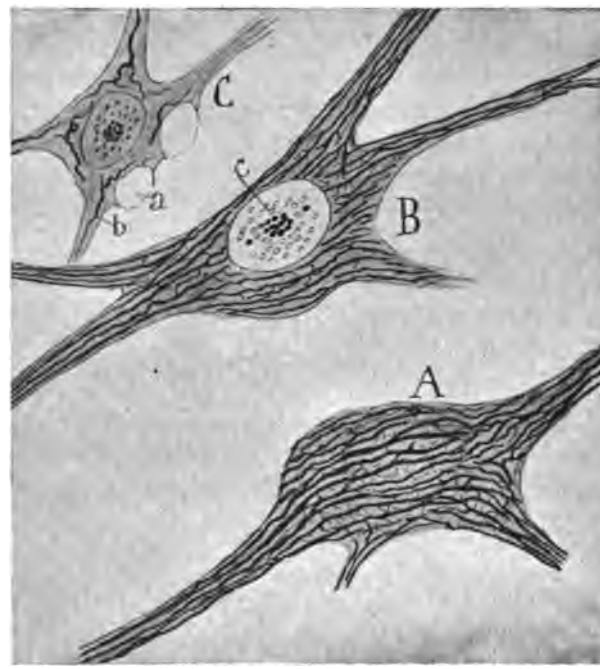


Fig. 2. — Células funiculares de la médula espinal de un conejo rabioso sacrificado en el momento de comenzar las parálisis. — A, B, corpúsculos con neurofibrillas gigantes; C, elemento funicular pequeño; *a*, vacuola; *b*, neurofibrilla serpenteante.

del conejo y perro muertos de rabia. Pero como puede presumirse, antes de llegar á esta fase, pasa el retículo por formas intermedias que representamos en la fig. 2. Así, en B adviértese un espesamiento anormal de los hilos que comienzan á separarse por espacios intersticiales claros, pobres en filamentos secundarios, mientras que el núcleo, cuyas esferas nucleolares están algo disgregadas, contiene un gran número de granos pardos diseminados *(c)* que faltan en el estado normal. En la célula A, el diá-

metro de los filamentos primarios se acrece todavía, mostrándose ya tal cual huso y exhibiendo en ciertos casos la materia coloreable por la plata un aspecto granuloso particular. En fin, la célula *c*, de tipo funicular pequeñísimo, exhibe algunos cordones flexuosos ramificados y como serpenteantes, que destacaban muy bien sobre un espongioplasma vagamente reticulado. La hipertrofia de los hilos comienza en la periferia celular y se corre sucesivamente hacia el centro. No hacemos mención de otras muchas lesiones, tales como: vacuolas superficiales, palidez y estado granuloso del retículo, disgregación del protoplasma, encogimiento é

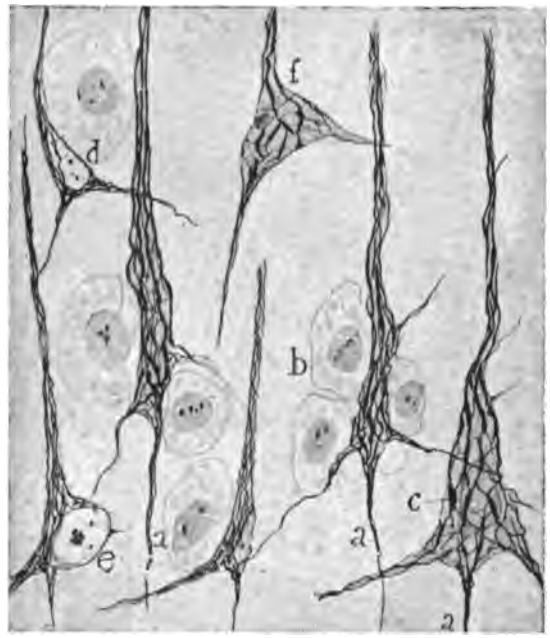


Fig. 3. — Pirámides cerebrales alteradas de un conejo rabioso. — *a*, axon; *b*, células neuróglicas pericelulares.

hinchazón varicosa de las mazas nerviosas pericelulares (médula) y cestas perisomáticas (células de Purkinje del cerebelo) lateralización del núcleo y otros desórdenes, en parte ya descritos por los autores, y que expondremos en el trabajo extenso antes anunciado.

En la fig. 3 presentamos también algunas pirámides alteradas del conejo muerto de rabia. Nótese igualmente (*c*) la presencia de espesamientos en los hilos primarios, y la simplificación del retículo, por desaparición tanto de filamentos secundarios como de primarios. En ciertos parajes, el núcleo se ha hecho marginal y en casi todos los elementos se ad-

vierte una notable reducción transversal relacionada quizás con la hinchazón de los elementos neuróglicos pericelulares. El axon ha resistido al proceso, mientras que el tallo radial aparece con fibras escasas, gruesas y á veces serpenteantes.

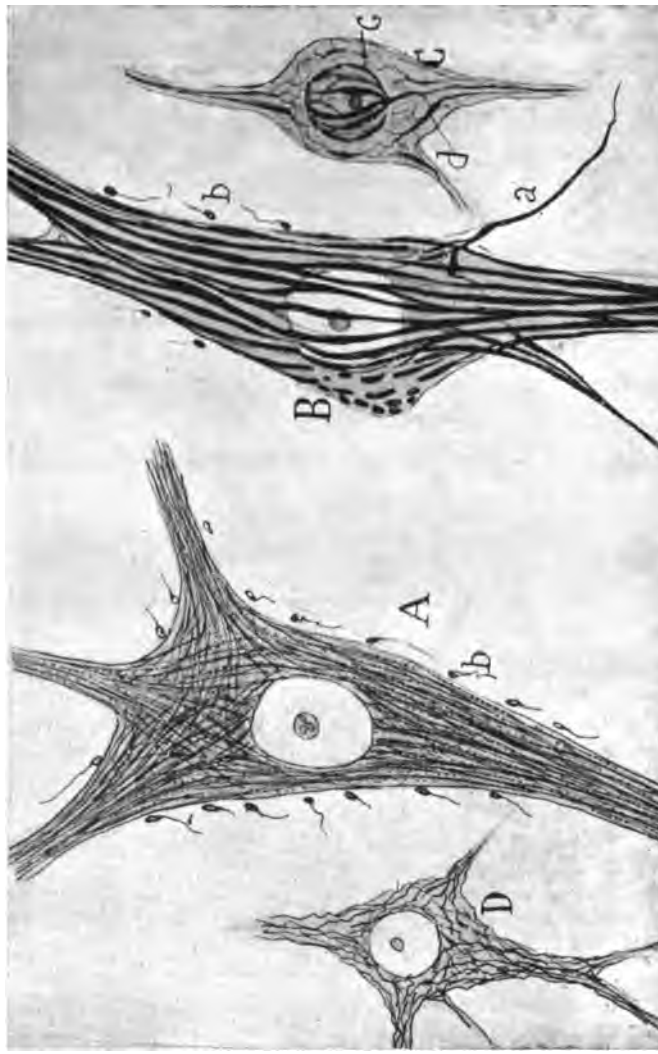


Fig. 4. — Células de la médula espinal del lagarto. — A, D, corpúsculos motor y funicular en actividad (treinta horas de estufa á 30°); B, C, células motrices y funicular de la médula de un lagarto conservado á la temperatura ordinaria (12° centígrados); *a*, axon; *b*, mazas nerviosas terminales; *c*, red perinuclear; *d*, filamento primario espesado.

Variaciones normales del retículo. — Desde hace algunos meses habíamos observado nosotros que algunos corpúsculos de la médula espinal y bulbo del conejo adulto y muy especialmente del de pocos días, mostraban, esporádicamente, en su retículo ciertos espesamientos fusifor-

mes intensamente coloreados por la plata, sobre cuya significación no nos pronunciamos.

Hace pocos días nuestro ayudante Tello (1) fué sorprendido por un fenómeno notable. En un lagarto que, por haberle sido amputada la cola, mostrábase excitado, las células de la médula espinal, en vez de mostrar un retículo de hilos gigantes, como sucede ordinariamente en los reptiles, halló neurofibrillas abundantísimas, pero de grosor escasamente superior al de las de los mamíferos.

Admirados por tan insólito resultado, supusimos en seguida que la hipertrofia de las neurofibrillas de los reptiles constituía un fenómeno morfológico secundario, debido á la acción del frío y al consiguiente entorpecimiento de los reflejos medulares (fig. 4, B). En nuestro sentir, dicho estado hipertrófico del armazón desaparecería al arribo de la primavera. Con el fin de ver hasta qué punto correspondía mi conjetura á la realidad de los hechos, sometió nuestro ayudante varios lagartos, durante dos días, á la temperatura de 37° (en estufa). Grande fué su asombro cuando al examinar la médula espinal, coloreada por el nitrato de plata, halló las neurofibrillas enormemente multiplicadas, de diámetro finísimo, de aspecto ligeramente granuloso y exentas enteramente de los espesamientos colosales citados. Los espacios claros, tan extensos y aparentes en las células invernales, habían desaparecido casi del todo (A), presentándose surcados por infinitos hilos. El tamaño de la célula pareció ligeramente aumentado, como si el estado de actividad hubiera atraído al protoplasma jugos nutritivos. Finalmente, las fibrillas nerviosas terminales, con sus correspondientes mazas, no parecen experimentar ningún cambio importante, según puede apreciarse en la fig. 4, *b*. El contraste de disposición es tan grande (véase la fig. 4, A, B), que al pronto se resiste uno á creer se trate en ambos casos de neuronas motrices medulares del mismo animal.

También se advierten importantes diferencias en las células funiculares medianas y pequeñas, desapareciendo por completo las dilataciones fusiformes y los espesos plexos perinucleares (fig. 4, C, D) de los animales aletargados.

Estos resultados han sido confirmados también con otro lote de lagartos recientemente adquiridos. Pero esta vez la temperatura de las estufas no ha pasado de 25°, habiéndose prolongado la acción del calor desde un día hasta tres.

No se han hecho nuevos experimentos por falta de material. En los próximos pensamos determinar cuál es el tiempo mínimo necesario para que el calor haga desaparecer la fase morfológica de reposo y hasta qué

(1) *P. Tello:* Sobre la existencia de neurofibrillas colosales en las neuronas de los reptiles. *Trab. del Lab. de Inv. biol.*, núm. 4, t. II, 1903.

punto pueden reemplazar á la temperatura, en sus efectos sobre el retículo, la excitación mecánica del animal y los estímulos químicos.

En vista de los citados experimentos, no es difícil de prever que, en cuanto llegue la primavera, se desvanecerán los filamentos colosales descubiertos por Tello.

Resulta, pues, indudable, que el retículo nervioso es susceptible de sufrir cambios morfológicos y cuantitativos, según que las células se hallen en reposo (entorpecimiento por el frío invernal) ó en actividad. Conclusión que se robustece teniendo en cuenta que, aun en los reptiles entorpecidos por el frío, las neurofibrillas gigantes faltan en el cerebro, entrecerebro y mesocéfalo, centros que conservan su actividad, no obstante la acción deprimente de las bajas temperaturas. Es singular que el aparato ganglionar intestinal, también en reposo, presente neuronas con neurofibrillas espesadas.

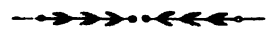
Aproximando los hechos de retracción y espesamiento del retículo en los animales rabiosos, á los observados esporádicamente en mamíferos jóvenes normales (perro y conejo), y á los recientemente descubiertos en los reptiles por Tello, parece deducirse que el retículo no es, según se ha supuesto, un mecanismo fijo y estable (simple colección de hilos conductores), sino un aparato variable, capaz de transformaciones que podrían compararse con el amiboidismo intracelular de las células de los pelos estaminales de la *Tradescantia virginica*. Es muy posible que en estado de reposo (sueño invernante, aislamiento funcional por lesión de las fibras nerviosas, como en la rabia, etc.), el retículo se contraiga, corriéndose con toda su materia á ciertos parajes de los filamentos primarios, que adquieren de esta suerte espesamientos fusiformes colosales. En estado de actividad, sobrevendría el fenómeno contrario, desapareciendo los espesamientos y aprovechándose la materia plástica para la construcción de nuevos filamentos. Es claro que son posibles, y acaso más probables, otras interpretaciones. Podría imaginarse también, por ejemplo, que durante el estado de reposo, el espesamiento de los hilos resulta de la adherencia y fusión, en filamentos recios, de muchísimos hilos primarios y secundarios, con lo que se crearían grandes espacios claros interfibrilares; mientras que en la fase de actividad normal, los robustos cordones volverían á resolverse en hilos finos, complicándose nuevamente el armazón y angostándose los intersticios intraprotoplásmicos.

Todo esto es muy vago todavía y no se apoya sino en un corto número de observaciones positivas. Urge, pues, explorar el retículo en otros animales invernantes, tales como la marmota, etc.; y hay que llevar también el análisis á otras enfermedades nerviosas (difteria, tétanos, etc.), así como á los desórdenes causados por la anemia, reposo forzado, narco-

tismo, fatiga, etc. Sólo de este modo, y dado que los resultados sean concordantes, cabrá formular una hipótesis racional acerca de la significación fisiológica de los diversos estados morfológicos de las neurofibrillas.

De todos modos, el hecho de la variabilidad fisiológica del retículo celular, puede considerarse, desde ahora, como una adquisición definitiva de la ciencia. Dato positivo es también la vivísima capacidad reaccional de las neurofibrillas á las influencias patológicas. Futuras investigaciones podrán solamente decirnos si las variaciones morfológicas del citado armazón son específicas, ó si representan más bien, á la manera de la cromatolisis, una respuesta reaccional uniforme á diversos estímulos patológicos.

Madrid 10 de Febrero de 1904.



OBSERVACIONES MORFOLÓGICAS

SOBRE LOS EMBRIONES DE LAS FILARIAS DE LOS PERROS

(*FILARIA IMMITIS*, LEIDY)

POR EL

DOCTOR GUSTAVO PITTALUGA

Comunicaré en esta nota los resultados de algunas investigaciones llevadas á cabo durante el verano último (1903) en Extremadura (Navalmoral de la Mata, provincia de Cáceres), y continuadas luego en Madrid en el otoño é invierno sucesivo, acerca de los embriones de Filarias en la sangre de los perros (*Filaria immitis*, Leidy, 1850, *Filaria papillosa-hæmatica canis domestici*, Delafond y Gruby).

A pesar de la limitación de mis observaciones y de mi estudio (puesto que sólo he querido aclarar y determinar la íntima estructura celular de los embriones circulantes en la sangre del huesped vertebrado), es indudable que el argumento tiene verdadera importancia, no sólo bajo el aspecto morfológico, sino también bajo el aspecto biológico, y debe ponerse en relación con todo el caudal de conocimientos adquiridos durante estos últimos años sobre el parasitismo de estos nematodes, así en los animales domésticos como en el hombre, y respecto de su ciclo evolutivo, desde el huesped vertebrado al invertebrado, y desde el segundo, donde se cumple la evolución de los embriones al estado larval, otra vez al huesped vertebrado, hasta que, ya en condición de gusanos adultos, lleguen á ser aptos para la fecundación y la reproducción.

Las filarias del hombre (*Filaria sanguinis hominis*, Lewis, 1872), cuyos embriones, circulantes en la sangre periférica, habían sido observados y estudiados mucho antes que se encontraran ejemplares adultos (ya desde 1866, por Wucherer), comprenden en realidad cuatro especies distintas: *Filaria Bancrofti* (ó *nocturna*); *Filaria Loa* (ó *diurna*); *Filaria perstans* y *Filaria Demarquoyi*.

Los estudios de Cobbold, de Bancroft (hijo) y sobre todo los de Pu-

trick Manson (1), acerca de la especie *F. Bancrofti* (ó *nocturna*), nos han demostrado que estos nematodes, parásitos del hombre, tienen un huesped intermedio en el mosquito del género *Culex* (*Culex ciliaris*).

Las filarias del perro (*F. immitis*, Leidy, ó *F. papillosa hæmatica canis domestici*, Delafond y Gruby, 1852), presentan un ciclo biológico parecido, y tienen su período de desarrollo embrional en los tubos malpigianos de mosquitos pertenecientes al género *Anopheles*.

La *Filaria labiato-papillosa* del buey (Alessandrini), según queda demostrado por las recientes investigaciones del Dr. G. Noé (2), tiene su huesped invertebrado en los dipteros del género *Stomoxys* (*Stomoxys calcitrans*, L.).

(1) *P. Manson*: «The development of the *Filaria sanguinis hominis*» (*Medic. Times*, London, 1878, v. II, pág. 731).

T. S. Cobbold: *Mosquitoes and Filariae* (explanatory note). (*British Méd. Journ.*, 16 Mayo, 1878).

P. Manson: *The metamorphosis of Filaria sanguinis hominis in the mosquito* (Transact. Linneau Soc. London, 1884. Zool., vol. II, p. X).

L. Bancroft Thomas: *On the metamorphosis of the young form of Filaria Bancrofti*, Cobb. (*F. sanguinis hominis*, Lewis; *F. nocturna*, Manson) *in the body of Culex ciliaris*, Linn., *the house mosquito of Australia* (in: Proceedings of the Royal Society of N. S. Wales. vol. XXXIII, 1889).

Low George: *Filaria nocturna in Culex*: *probable mode of infection of man* (*Brit. Med. Journ.*, 16 Guigno, 1900).

Grassi e Noé: *Propagazione delle filarie del sangue esclusivamente per mezzo della puntura di peculiari zanzare* (in Rendic. Accad. Lincei; vol. IX, 1900).

Uebertraguag der Blutfilariae ganz aufschliesslich durch den Stich von Stechmüchen, von B. Grassi u. G. Noé (Centralb, f. Bakter., Parasitenk. etc., XXVIII, número 19).

Dott. G. Noé: «Sul ciclo evolutivo della *Filaria Bancrofti* (Cobbold) e della *F. immitis* (Leidy)». Roma, 1901 (con 3 tavole).

Th. Bancroft: *Preliminary notes on the intermediary host of Filaria immitis*, Leidy (Royal Soc. of. N. S. Wales, Iune 1901).

Note on the etiology of filariasis by Lieut. colonel Y. Maitland (*British. Med. Journal*, 1 Sett. 1900, p. 537).

R. Blanchard: *Les migrations de la Filaire du sang* (*Bull. Acad. Med.*, 22 mai, 1900).

R. Blanchard: *Trasmission de la filariose par les moustiques* (*Archives de Parasitologie*, II, 2, p. 280).

P. Sonsino: *Sugli ultimi risultati sperimentali concernenti il ciclo vitale della Fil. Bancrofti nella zanzara in confronto con quelli sul ciclo vitale del parassita della malaria* (*Giorn. R. Accad. di Medicina*, Torino, 1900).

P. Manson: Tropical diseases, a manual of the diseases of warm climates; 3.ª ed., London, 1903 (capit. *Filariasi*), p. 547 e seg.

G. Low: *Filaria perstans* (*Brit. Med. Journ.*, num. 2204, 28 Marzo, 1903).

(2) *Studi sul ciclo evolutivo della Filaria labiato-papillosa*, nota del Dr. *G. Noé* (in Rend. Accademia dei Lincei, 8 Novembre, 1903).

Pero nos faltan aún muchos datos hasta de carácter pura y sencillamente morfológico, acerca de otras especies de filarias de los animales domésticos. Así es, por ejemplo, que apenas si conocemos la hembra adulta de *Filaria inermis* (Grassi), encontrada en el burro y en el caballo, y además, descrita también en el hombre con los sinónimos de *F. conjuntivæ* (Addario, 1885), *F. palpebralis* (Pace, 1867), *F. peritonæi hominis* (Babes, 1880).

Recientemente ha sido observado un ejemplar, según toda probabilidad perteneciente á nueva especie, de filaria del caballo (*F. equina*, Blanchard, ó *F. papillosa equi*) (1). Todas estas observaciones merecen ser completadas por nuevas y más detenidas investigaciones.

*
* *

Por lo que se refiere á la *Filaria immitis* del perro, diremos en muy pocas palabras, los caracteres de los adultos, su origen, y las fases sucesivas de evolución.

Las Filarias adultas se encuentran preferentemente localizadas en el ventrículo derecho del corazón y en las arterias pulmonares del perro; mas pueden encontrarse también—y sobre todo cuando falten en el corazón—en el tejido conjuntivo subcutáneo (2).

Trátase de agrupamientos de dos á diez y más gusanos filiformes, siendo las hembras, por lo general, más largas que los machos. Las hembras pueden, en efecto, alcanzar las medidas de 300 milímetros, con un diámetro transversal de 1 á 1 y medio milímetros: los machos se quedan en general entre 130 á 180 milímetros, con un diámetro transverso de 0'50 á 1 milímetro. Tienen cuerpo cilíndrico, blanco opaco; el del macho termina con

(1) *E. Martini*: *Ueber eine Filaria sanguinis equi* (in Zeitschrift f. Hygiene, tomo XLII, 2, 1903, pág. 351).

(2) *S. Rivolta*: *Relazioni fra gli embrioni di F. immitis del sangue del cane ed alcune lesioni patologiche* (*Giornale di Anat. Fisiolog. e Patolog. degli Animali*, Pisa, 1877).

Silva Aranjo: *Filaria immitis* et *filaria sanguinolenta* (trad. al francese, Lyon, 1878).

A. Lanzillotti Buonsanti: *Sulle alterazioni che producono gli embrioni di F. immitis e su una cisti con F. immitis nel connettivo intermuscolare di un cane* (*La Clin. veterin.*, Milano, 1881).

G. B. Ercolani: *Osservazioni elmintologiche sulla dimorfobiosi, sulla Filaria immitis, etc.* (Bologna, 1885).

Sonsino (*P.*): *Ricerche sugli ematozoi del cane* (Atti della Soc. Toscana di Scienze naturali, vol. X, 1888).

Calandruccio: *Descrizione degli embrioni e delle larve della Filaria recondita*, Grassi (Att. dell'Accad. gioenia, Catania, 1892-1893),

Noé G.: Op. cit. «Sul ciclo evolutivo della *F. Bancrofti* e della *F. immitis* (Roma, 1901, con 3 tav.).

una extremidad caudal muy fina, dispuesta en espiral. La boca es pequeña, redonda, con seis papilas alrededor. La vulva se abre, en la hembra, á 1'80 á 2 milímetros desde la abertura bucal.

Sacados estos gusanos adultos del medio ambiente en que viven (sangre del corazón, tejidos conjuntivos bien vascularizados), quedan como entorpecidos y se mueren después de muy poco tiempo. Pero en agua á 35 ó 37°, y sobre todo en solución fisiológica de NaCl, pueden conservar su vitalidad, según demostró Silva Aranjo, hasta veinticuatro horas y más.

Es condición indispensable, para que en la sangre de los perros infectados aparezcan los embriones, que se encuentren en sus tejidos, inoculados, como veremos más adelante, por las picaduras del mosquito, á lo menos un macho y una hembra, puesto que se trata de gusanos con sexos separados.

Cuando hay en los tejidos del perro machos y hembras adultas, éstas, fecundadas, producen huevos y luego embriones en número extraordinario; embriones que se presentan dotados de movimientos activísimos en la sangre periférica del perro.

Estos embriones no son destinados á ulterior desarrollo, hasta que algún mosquito del género *Anopheles*, habiendo picado al perro que los hospeda, introduzca en su tubo digestivo, mezclados con la gota de sangre chupada, un cierto número de ellos.

De esta forma penetran, por lo tanto, los embriones de *Filaria immitis* en el organismo del mosquito, y, por razones biológicas no claramente definidas, hasta dentro de los cinco tubos malpigianos, donde se fijan y permanecen encerrados durante todo el período de su evolución larval.

Esta forma de desarrollo en los dos huéspedes alternantes, el hombre y el mosquito, ha sido terminantemente demostrada por Grassi y Noé durante el año 1902.

Dentro de los tubos malpigianos del mosquito, los embriones se desarrollan y su fina anatomía celular, tan diligentemente estudiada por el Dr. Noé, demuestra las sucesivas transformaciones del tubo digestivo y demás órganos, hasta el punto en que el embrión, ya llegado á un estado larval maduro, abandona, con movimientos activos, el tubo malpigiano (por demás completamente destrozado) y penetra en la cavidad del lacunoma, logrando alcanzar en esta forma hasta las estroflexiones del lacunoma en el *labium*. Desde allí, por un mecanismo muy singular, cuando el mosquito pica á otro perro, las larvas de *Filarias* se introducen dentro de la herida, y por este camino, fijándose luego en los tejidos ó en el corazón del mamífero, logran — si hay representantes de ambos sexos — reproducir el ciclo descrito, procreando gran número de embriones.

La fina anatomía de estos embriones, constituye un problema en extremo interesante, puesto que en ellos tienen que encontrarse los distintos elementos, origen de los órganos que se desarrollarán luego en los períodos de la vida larval, en el interior de los tubos malpigianos de los mosquitos.

Mas nuestros conocimientos en este sentido eran, hasta la fecha, muy poco satisfactorios.

El mismo Dr. Noé, en su importante trabajo, ya recordado, «*Sul ciclo evolutivo della F. Bancrofti e della F. immitis*» (1901), limítase á describir los embriones de la F. del perro, durante su vida en la sangre del huesped vertebrado, con las palabras que siguen: «Estos embriones, observados con mucha atención, presentan una organización más complicada de lo que parece. Ya puede uno ver, á lo largo de la parte anterior del cuerpo, si bien apenas indicado por una línea sútil, el lumen intestinal, que á veces puede extenderse posteriormente en un tracto muy notable. Muchas veces dicha línea parece como interrumpida por varias manchas pequeñas ó puntos resplandecientes, los cuales representan pequeñas dilataciones llenas de líquido transparente.

Acerca del límite de la tercera parte anterior del cuerpo embrional, se ve muy bien una mancha ovoidal, también resplandeciente, situada sobre el lado ventral del embrión. Representa esta mancha el inicio de una glándula que se encuentra luego muy bien desarrollada en las larvas durante su evolución sucesiva en los tubos malpigianos del mosquito, y que ha sido descrita por Grassi y Calandruccio en las larvas de *F. Recondita* bajo el nombre de *glándula anterior*.

Al límite de la tercera parte media del cuerpo se puede poner de relieve, con alguna dificultad, una gruesa célula ovoidal que parece ser el indicio de los órganos genitales» (1).

Como se ve, esta descripción, á pesar de su exactitud, no puede considerarse como suficiente bajo el aspecto morfológico.

Por otro lado, las preparaciones de sangre en seco, sometidas, después de haberlas fijado, á los varios métodos de coloración, no dan resultados mejores, en cuanto no llegan á revelarnos en la forma debida, conservando las disposiciones normales, la estructura celular de los embriones. Así es que, por ejemplo, los preparados teñidos con Tionina fenicada de Nicolle, ó con azul de metileno en solución alcalina, ó con ematoxilina, á pesar de lo que digan los autores, no son á propósito para el estudio morfológico, puesto que en ellos se tiñen los embriones irregularmente

(1) Véase pág. 311, vol. VIII, fasc. 3-4, 1901.—«*Ricerche fatte nel Laboratorio di Anatomia normale della R. Univers. di Roma ed in altri laboratori biologici*».

in toto, diferenciándose muy mal las distintas células (debido en gran parte á la fijación previa).

En una reciente Memoria de Lang y Noc, «*Les filaires en Nouvelle Calédonie*» (1), dicen estos autores: «... La meilleur procédé de coloration du sang consiste dans l'emploi de la Thionine phéniquée de Nicolle. Ce colorant met bien en évidence *la constitution intime* des embryons, qui apparaissent colorés en violet, etc.....» Ahora bien, cuantas preparaciones he hecho con este método y los otros parecidos, siempre me han dado coloración uniforme ó casi uniforme de los cuerpos embrionales, y sólo la falta de comparación con los resultados que se obtienen con el método de la coloración en fresco, según le describiremos, puede hacer creer que los métodos en seco permitan poner de relieve la constitución íntima de los embriones.

Y no quiero detenerme más en examinar las varias opiniones emitidas acerca del asunto. Sólo diré que, en una nota de Low, en el *Journal of tropical medicine* (16 Febrero de 1903), sobre «Method of mounting specimens of Bilharzia eggs, Filarial embrios, and Small Worms, etc.», se lee también que «... para los embriones de Filaria puede pasarse en agua el cubre-objetos con la gota de sangre, y luego añadir pocas gotas de una substancia colorante cualquiera, como fucsina, ematoxilina, etc.....». Lo que he dicho antes, vale también por lo que se refiere á los resultados de este método (tratándose de embriones de *F. immitis*).

En el tratado de Perroncito «*I parassiti dell' uomo e degli animali utili*», pág. 406 de su última edición (1902), hállase una figura que reproduce la forma de los embriones de *F. immitis*. Pero los cuerpos allí representados parecen constituídos exclusivamente por un protoplasma uniformemente granuloso, limitado por la cutícula periférica. No puede notarse en ellos distinción ó diferenciación alguna de células constitutivas. Y esto prueba una vez más el estado de nuestros conocimientos en el momento en que empezamos á ocuparnos del asunto.

*
* *

Los perros filariosos son numerosísimos en Extremadura, y en particular nosotros encontramos muchísimos en la provincia de Cáceres, distrito de Navalmoral de la Mata, comarca gravemente palúdica, donde abundan en modo extraordinario los mosquitos del género *Anopheles*.

Los mosquitos del género *Anopheles*, como hemos dicho, los mismos, por lo tanto, que transmiten al hombre el parásito de las fiebres intermi-

(1) Véase *Archives de Parasitologie*, París, 1903, núm. 3, pág. 369.

tentes, son los que hospedan las larvas de la *Filaria immitis* y las transmiten luego, ya desarrolladas, al perro, por medio de su picadura.

Por sus costumbres, puesto que vive en las habitaciones junto con el hombre y sobre todo con los animales domésticos, en los establos, cuadras, etc., la especie *Anopheles claviger* (sinónimo *maculipennis*, Meigen), abundantísima en Navalmoral de la Mata, es la que más frecuentemente hospeda las larvas de la Filaria del perro, y transmite, por lo tanto, el parásito. Pero también pueden hacerlo las otras especies (hoy divididas por la clasificación de Theobald en varios géneros nuevos) : *Anopheles pseudopictus*, Grassi (*Myzorynchus pseudopictus*, Blanchard, sec. Theob.); *Anopheles superpictus* (*Pyretophorus*, íd. íd.); *A. bifurcatus;* todas presentes en la comarca indicada.

Aprovechando semejantes circunstancias favorables, yo empecé con repetir las experiencias de Noé para examinar las sucesivas fases del desarrollo de las larvas en los tubos malpigianos del huesped invertebrado, infectando artificialmente algunos ejemplares de *Anopheles (claviger)*.

Pero sobre todo, impresionado por la comparación entre la morfología, ya bastante clara, de los primeros períodos larvales y la casi completamente desconocida de los embriones circulantes en la sangre del perro, me propuse llevar á cabo algunas investigaciones para esclarecer este asunto.

Desde luego me fijé en la posibilidad de llegar á buen resultado adoptando un método de coloración *in vivo*, añadiendo directamente una gota de solución colorante á la gota de sangre fresca, extraída del perro filarioso (1). Utilizando alguna substancia alcalina (anilinas básicas, y sobre todo, azul de metileno), y dejándola ejercer lentamente su acción sobre el protoplasma celular, era muy suponible que se pudiera lograr un grado de penetración del color suficiente para poner de relieve las células constitutivas del cuerpo embrional en sus condiciones normales. Además, podíamos aprovechar para este propósito las calidades de vitalidad y gran resistencia de los embriones en el plasma sanguíneo, también relativamente alterado. En efecto, en una capa de sangre de algún espesor, pueden verse los embriones vitales después de ocho horas y más,

(1) Hemos utilizado para estas observaciones : 1.°, un perro bastante viejo, de propiedad del jefe de estación del ferrocarril de Navalmoral de la Mata (26 Julio, 2 Agosto de 1903). Este perro padecía de respiración afanosa, frecuente ; paresis de los artos posteriores ; hematuria intermitente ; tumefación del escroto. Hospedaba un número extraordinario de embriones : no tuvimos posibilidad de ejecutar la autopsia ; 2.°, una perra foxterrier, de dos años y medio, que vivía en una choza en las afueras del pueblo ; 3.°, una perra de tres años, de nombre *Tula*, que luego fué trasladada á Madrid, ya filariosa, y cuya autopsia fué hecha en el mes de Febrero último, según se dará cuenta más adelante.

conservando su movilidad, no todos, pero sí algunos, y esto, á pesar de la evidente alteración de los hematíes y del plasma. Hay que decir que durante los varios momentos sucesivos de este período de tiempo, los embriones manifiestan distintas modificaciones reactivas. En un primer tiempo, se ven dichos embriones hacer movimientos serpentinos, deslizarse en forma de anguilas, trasladándose con facilidad debajo del cristal cubre-objetos. Luego, en un segundo período, siguiendo con esa forma de movimientos muchos de ellos, se ven otros, y poco á poco la mayoría, que se envuelven y se repliegan en espiral, con movimientos rápidos, desenvolviéndose también rápidamente. Y más tarde después de haber transcurrido más horas, los movimientos disminuyen de intensidad, y se ven los embriones, ya fijos, sólo hacer movimientos de balanza, agitando débilmente la extremidad cefálica y moviéndola de un lado á otro, con pequeños movimientos ondulatorios de todo el cuerpo embrional.

Es muy probable, en nuestro juicio, que la segunda forma ó segundo período, durante el cual aparece el movimiento espiral, represente una reacción motoria por excitación en el medio notablemente alterado. El tercer período, por fin, representa evidentemente un estado de agotamiento preagónico.

* * *

La técnica adoptada, para llevar á la práctica el concepto general antes manifestado, ha sido la siguiente:

Recogida sobre el cubre-objetos una gota de sangre de una pequeña herida (pinchazo), en la región mejor vascularizada de la oreja del perro, se pone rápidamente sobre el porta-objetos, ejercitando ligera presión. El porta-objetos ha sido previamente preparado, habiéndosele dejado caer encima una gota de la solución siguiente:

Azul de metileno crist. Lucius Meister, etc., Höcht.	0,20 gramos.
Carbonato sódico.....	0,30 —
Agua destilada.....	100,00 —

De esta forma, el plasma en el cual se mueven los embriones de la gota de sangre del cubre-objetos, se mezcla íntimamente con la solución colorante.

Estas preparaciones pueden conservarse por más tiempo en buenas condiciones, si se ponen á la estufa á 35 ó 38°. También puede encerrarse el cubre-objetos pegado al porta, con bordes de parafina ó de cualquier substancia impermeable: no se evita con esto la alteración de los hematíes, pero sí puede lograrse que los embriones se conserven coloreados en buenas condiciones.

He sustituído á veces la gota de la sencilla solución alcalina de azul de metileno, por una gota de la solución fenicada de Nicolle (Tionina fenicada), ó bien del azul fenicado de Kühne:

Azul de metil., id., id	2	gramos.
Acido fénico	2	—
Alcohol absoluto	10	—
Agua destilada	100	—

Estas soluciones tienen la desventaja de matar muy pronto los embriones, lo que impide que la impregnación celular se efectúe lentamente *intra vitam.*

El modo de comportarse los cuerpos embrionales durante el período de impregnación, debe ser observado detalladamente al microscopio. La reproducción de la imagen completa de un embrión llegado al término de su impregnación con el método descrito, y según lo representa la fig. 1, no nos proporciona todos los detalles que salen á luz cuando seguimos el proceso poco á poco, mientras se desarrolle y determine.

Es muy posible que la impregnación y coloración acontezcan en parte por el tubo digestivo, á pesar de que nos falten datos y argumentos exactos y definitivos á este propósito. Las distintas células del organismo embrional toman la coloración progresivamente, de ninguna manera en modo uniforme y simultáneo. Por lo general, parece que las primeras en teñirse son las pocas células que constituyen un pequeño agrupamiento á la extremidad cefálica del embrión; luego los núcleos de la mayor parte de células parietales (ectodérmicas), y por fin, la célula gorda que se encuentra en el límite de la tercera parte posterior con la tercera parte media del cuerpo (Gonade?) Las pequeñas células entodérmicas, que apenas se ven á lo largo del cuerpo embrional, se tiñen sólo tardía y escasamente en su borde protoplásmico sútil y en su nucleolo céntrico.

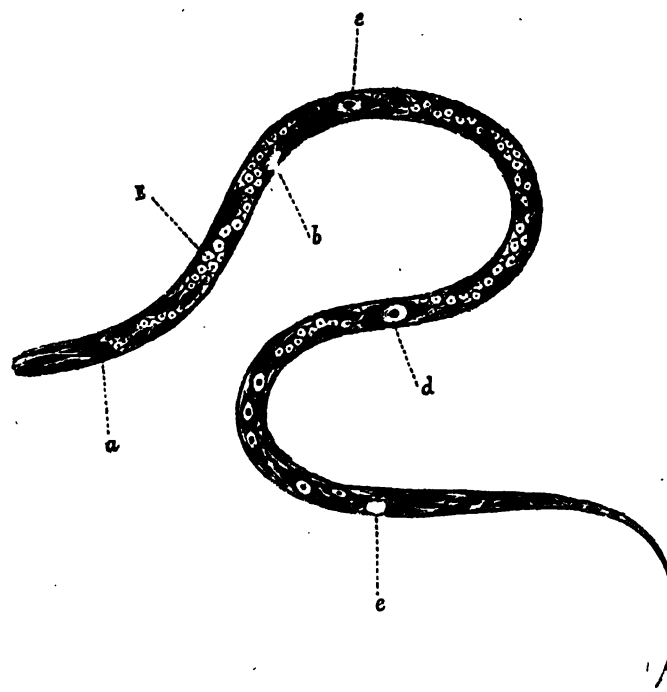
La figura que acompaña esta nota y que reune los detalles expuestos en una lámina precedentemente publicada (1), puede darnos una idea general bastante clara de la estructura celular así demostrada.

Enfocando convenientemente con el tornillo micrométrico, se ven á la extremidad cefálica del embrión, tres ó cuatro células con gruesas prolongaciones anteriores, que llegan al límite del cuerpo embrional, tocando la cutícula delgada (*a*). Inmediatamente, detrás de este agrupamiento cefálico, se perciben (en un período suficientemente adelantado de la impregnación), las pequeñas células entodérmicas (E), á las que

(1) G. Pittaluga: Sugli embrioni delle filarie del Cane (in *Archivos latinos de Medicina y de Biología*, Madrid, núm. 1, 20 Octubre, 1903).

están sobreimpuestos los núcleos ectodérmicos esparcidos debajo de la capa cuticular estriada, que reviste todo el cuerpo embrional.

Antes de llegar á la tercera parte de lo largo del embrión, nos encontramos con la vesícula refringente (muy claramente distinguible, sobre todo, con poca luz á través del diafragma), situada en contra de la pared del cuerpo embrional (*b*), ya descrita por Grassi y Noé, como hemos



Embrión de *F. immitis* (aum. $\frac{1}{1800}$).

a, agrupamiento de células cefálicas.
E, pequeñas células entodérmicas.
b, vesícula ó glándula anterior.
c, célula grande central.
d, gónade (?).
e, vesícula posterior.

dicho, con el nombre de *glándula anterior*. En las fases sucesivas del desarrollo larval dentro de los tubos malpigianos del Anopheles, se ve claramente que esta glándula monocelular tiene su abertura al exterior, por un agujero, á través de la cutícula. Las modificaciones de esta disposición, tan exactamente estudiadas y descritas por G. Noé (*loc. cit.*), no han podido aún acompañarse hasta la completa evolución de la larva en

gusano adulto, dentro del huesped vertebrado, y por lo tanto, no nos es posible sentar terminantemente la significación embriogénica y morfológica de este órgano.

Pero es importante añadir aquí el hecho siguiente. Con el mismo método de la coloración *in vivo* de los embriones en la sangre, y sustituyendo á la gota de sencilla solución de azul de metileno, una gota de la mezcla de azul de metileno y eosina (solución 1 por 100 de eosina B cristal. Meister L. & B.), hemos observado que el contenido de la glándula anterior, preséntase siempre con el aspecto de pequeños coágulos de color terroso ó rojizo, indudablemente debidos á la precipitación de substancias acidófilas (1). Esto parece permitir la afirmación de que *el contenido de la pequeña ampolla glandular posee propiedades acidófilas*, y además, *que ésta comunica con el exterior*, también durante el período de vida embrional en la sangre del vertebrado.

Algo posteriormente á la vesícula descrita (á una distancia de 28 á 30 μ), se ve coloreado intensamente (con el azul de met.), el citoplasma de una célula muy gorda, con núcleo grande y claro y nucleolo central. Esta célula parece prolongarse hacia la porción anterior del cuerpo y adquirir relaciones muy singulares con la glándula anterior.

Desgraciadamente, no conocemos la función de esta glándula, sobre la cual se detiene largamente Noé (pág. 319, *loc. cit.*) para estudiar su importancia y significación funcional en las larvas, sin poder llegar á conclusiones seguras; y, por tanto, no podemos adelantar interpretación ninguna tampoco sobre las disposiciones tan singulares que se perciben en este punto del cuerpo embrional.

En mi precedente nota (2) y tomando en consideración las disposiciones anatómicas del gusano adulto y las sucesivas modificaciones de la *glándula anterior* en las fases larvales dentro de los tubos malpigianos del *Anopheles*, según han sido demostradas por Noé, yo me permití adelantar algunos conceptos acerca de la posibilidad que dicha *glándula* representara el esbozo de las vías genitales externas en las hembras de *Filaria immitis*. Reconozco las dificultades de carácter embriogénico y morfológico que se oponen en parte á esta interpretación, y sobre todo, la falta de datos exactos y terminantes en este propósito. Lo cierto es que la *glándula anterior* se observa, y puede seguirse desde las formas em-

(1) El haberse añadido eosina al azul de metileno en la solución colorante, no ha modificado notablemente el resultado de la impregnación celular. Sólo las pequeñas células redondas y poligonales, ya descritas como células entodérmicas, parecen revelar más nítidamente el nucleolo, por impregnación electiva de la cromatina nucleolar.

(2) Loc. cit. *Archivos latinos de Medicina y de Biología*. núm. 1; Octubre, 1903.

brionarias en la sangre del vertebrado hasta los últimos períodos del desarrollo larval en el huesped invertebrado, encontrándonos al llegar á este punto con una interrupción, porque nos falta por completo todo conocimiento sobre las definitivas transformaciones y adaptaciones de estos nematodes, después de su introducción en el organismo del vertebrado (en este caso, del perro).

El hecho de comunicar la *glándula anterior*, según parece, con el ambiente exterior, á través de la cutícula periférica del cuerpo embrional, sugiere la idea de que sea destinada verdaderamente á alguna función de secreción, quizá protectiva, y, por lo que se refiere al período de vida embrional en la sangre del vertebrado, las condiciones de la reacción leucocitaria por parte del huesped, parecen confirmar esta sospecha. Lang y Noc (1) han observado en los perros que hospedan *F. immitis*, una hiperleucocitosis que llegaba á veces hasta 30.000 elementos por mílímetro (la cifra normal es de 8 á 9000), y sobre todo una polinucleosis notable, siendo en mayor número los leucocitos eosinófilos. ¿Pueden estos datos resultantes del examen hematológico llevarnos á alguna conclusión acerca de la función secernente de la glándula anterior? Sería demasiado arriesgado afirmarlo, tanto más en cuanto mis observaciones personales sobre la reacción leucocitaria en la sangre de lo perros infectados, me han probado que no se trata ya de fenómenos tan constantes ni tan definidos como puede creerse en el principio.

La hiperleucocitosis del perro filarioso es transitoria ó, mejor dicho, se determina por accesos, agotándose después de cierto tiempo, y si bien es constituída prevalentemente por elementos polinucleares, no se notan siempre en número anormal los leucocitos eosinófilos.

Prosiguiendo hacia la extremidad posterior del cuerpo embrional, nos encontramos con una porción bastante larga en que se observan tan sólo las pequeñas y numerosas células redondas ó poligonales, con borde protoplasmático sútil y nucleolo central fuertemente teñido, sobre las cuales, y debajo de la capa cuticular, se notan algunos núcleos ectodérmicos, hasta que se llega en el límite, entre la tercera parte media y la tercera parte posterior del embrión (fig. 1, *d*), á una gruesa célula muy parecida á la descrita precedentemente en relación con la *glándula anterior*. Quizá esta segunda sea de dimensiones algo mayores, según parece, observando buen número de embriones. Trátase de una célula con citoplasma intensamente teñido, con bloques y cuerpecitos cromáticos, alrededor

(1) *Lang* y *Noc* : Les filaires en Nouvelle Caledonie. (*Archives de Parasitologie*, de Blanchard, 1903, núm. 3).

de un núcleo muy grande, claro, y que encierra un nucleolo central bastante gordo. Esta célula, según los conocimientos actuales debidos en su mayor parte á los estudios de Leuckart acerca de semejantes disposiciones embrionales de los gusanos (Nematodes), debe representar el esbozo de la *gónade*, de las células sexuales. En los períodos posteriores de la evolución larval, dentro del huesped invertebrado, estas células agrupadas se ven trasladarse sucesivamente hacia la porción anterior del cuerpo, sin alejarse mucho de su punto de origen.

Poco después de dicha célula, que representa el esbozo de la *gónade*, siguiendo hacia la extremidad posterior del organismo embrional, se observa un agrupamiento de cinco á seis células entodérmicas, de dimensiones bastante mayores que las descritas á lo largo de las porciones anterior y media y de distinta forma. Estas células constituyen los elementos del intestino quilífero, que se desarrollará más claramente desde los primeros períodos de vida de las larvas en los tubos malpigianos del huesped invertebrado.

Este agrupamiento celular llega hasta un punto donde se encuentra una segunda vesícula clara, transparente, refringente, con reflejos amarillentos, dispuesta como la primera, ó glándula anterior, hacia la pared ventral del embrión. Esta *vesícula posterior* (*e*) está situada en el punto intermedio entre la célula que debe representar el esbozo de la gónade, y la extremidad caudal del cuerpo.

Es indudable que dicha vesícula posterior debe considerarse como el esbozo del intestino posterior, aún no comunicante con ninguna cavidad del intestino quilífero, puesto que sólo más tarde, en un período bastante adelantado de desarrollo de las larvas en el mosquito, se establece esta comunicación. Su presencia en los embriones de la sangre del vertebrado, es de extraordinaria importancia, puesto que parece demostrarnos que el intestino posterior tiene origen esquizocélico, y no se forma por introflexión y consiguientes fenómenos de ruptura y soldadura. Este hecho, sin haber sido comprobado terminantemente, había sido interpretado como posible por G. Noé (*loc. cit.*), por sus observaciones sobre la presencia de un esbozo de intestino posterior desde los primeros momentos de vida de las larvas en los tubos malpigianos. También tengo que recordar que Patrick Manson, en su *Tratado de enfermedades tropicales* (1), describiendo los embriones de *F. Bancrofti* (del hombre), habla de una *tail spot* (mancha caudal), adelantando la hipótesis de que pudiese tratarse de un rudimento *of the anus, or cloaca, and posterior part of the alimentary canal.*

(1) Tropical diseases, pág. 550, 3.ª edición.

La aplicación del método de coloración *in vivo* al estudio de los embriones de las filarias del hombre, permitirá, indudablemente, esclarecer más este asunto, y determinar la estructura celular de estos organismos con datos comparativos.

La última parte del cuerpo embrional, poco después de la *vesícula posterior*, empieza á hacerse más delgada, hasta que termina en un filamento sútil, constituído en su extremidad exclusivamente por la cutícula estriada. Pero antes se encuentran aún varios núcleos ectodérmicos, acercados unos á otros y casi agrupados.

Esta es la disposición de la íntima estructura celular en los embriones de *Filaria immitis*, disposición que podemos seguir ahora más claramente, durante las sucesivas transformaciones, en las formas larvales que se desarrollan en el huesped invertebrado.

Sólo me interesa detenerme aún un momento acerca de la significación morfológica del pequeño agrupamiento de células cefálicas (figura 1, *a*), tan singularmente dispuestas con sus prolongaciones anteriores hacia la extremidad del cuerpo embrional. El ectoderma embrionario de estos Nematodes debe encontrarse indudablemente en una condición de diferenciación tan atrasada, que no podemos quizás permitirnos de distinguir los elementos epiteliales sencillos y los elementos ya próximos á los caracteres del tejido nervioso. Pero, si nosotros ponemos en comparación la disposición embrionaria representada por dicho agrupamiento de células cefálicas, con la disposición del anillo de pequeñas células nerviosas, ya claramente visible en los primeros períodos larvales, parece muy lógico interpretar el agrupamiento cefálico de los embriones como constituído de los elementos neuro-epiteliales que darán origen á las células nerviosas del anillo peri-esofágico.

*
* *

Los embriones, así descritos, viven indefinidamente en la sangre del perro filarioso, sin posibilidad ninguna de desarrollarse ulteriormente, mientras permanezcan en el huesped vertebrado, donde se encuentran los gusanos adultos que los han producido. Mas cuando un mosquito del género *Anopheles*, habiendo picado al perro filarioso, introduce en su tubo digestivo, mezclados con la sangre chupada, un determinado número de dichos embriones, éstos, penetrados á través de faringe y esófago, en el estómago del mosquito, se dirigen hacia las desembocaduras de los cinco tubos de Malpighi, que constituyen el sitio de elección para su desarrollo en el huesped invertebrado.

De modo que la migración de los embriones desde el mamífero (perro) al díptero, es en realidad una migración pasiva, por lo que se refiere á

todo su primer período, hasta la definitiva introducción en el estómago del mosquito. La faringe de estos dípteros, provista de musculatura, dilatándose y contrayéndose sucesivamente, empuja la sangre y con ella los embriones chupados, hasta los estómagos chupadores y el estómago verdadero.

Hay más, puesto que desde el momento en que el mosquito ha introducido toda la cantidad de sangre necesaria y suficiente en sus estómagos y se ha posado para llevar á cabo la digestión, los embriones de *F. immitis* mezclados con la sangre, se disponen todos, ó casi todos — y siempre pasivamente —, en el fondo del estómago, es decir, en el límite entre el intestino medio y el posterior, donde se encuentran las desembocaduras de los cinco tubos de Malpighi.

Pero desde ahora, y en este punto, empiezan ya los movimientos *activos* de los embriones para introducirse en dichos tubos; de modo que este último período de la migración ya no sucede *pasivamente*, sino que, al contrario, se cumple por movimientos *activos* de los parásitos. Puede ser, como piensa Noé (1), que también influyen en la determinación de este hecho otras disposiciones anatómicas y funcionales del huesped, así como, en parte, la misma ley de gravidad. Nosotros no podemos adelantar una interpretación única, y muy probablemente no existe tampoco una *causa única* de semejantes hechos biológicos.

Lo cierto es que la mayor parte de los embriones de *F. immitis*, después de llegados á la parte posterior del estómago, penetran dentro de los tubos malpigianos, donde se pueden ver, á las cinco ó seis horas desde la picadura, agrupados y á veces verdaderamente amontonados entre las células y en el lumen central de estos órganos. Naturalmente, no todos los embriones chupados por el díptero, logran introducirse en los tubos de Malpighi: algunos, arrastrados por la corriente del líquido ingerido, llegan al intestino posterior y quedan así eliminados por la abertura anal; otros mueren aún en la cavidad del estómago, cuando la mezcla de la sangre se ha alterado química y físicamente.

Los embriones que llegan dentro de los tubos de Malpighi en número siempre muy considerable y á veces extraordinario, dotados aún de movimientos vivísimos, destrozan las paredes celulares, destruyen la membrana, producen lesiones muy notables en el mismo citoplasma de todas las células, hasta que, poco á poco, ya van deteniéndose en sus movimientos y estos cesan por completo á las veinte, veinticuatro y treinta horas. Entonces se encuentran los embriones, fijos, encerrados dentro de los cuerpos celulares, revueltos muchos de ellos, todos casi por completo inmóviles.

(1) *Loc. cit.* pág. 313.

En esta forma empieza el desarrollo de estos organismos hasta la determinación de su definitiva estructura. Noé (*loc. cit.*), á cuyas observaciones debemos casi todos nuestros conocimientos sobre las fases sucesivas de semejante diferenciación morfológica, divide en *cuatro períodos* el desarrollo larval. Nosotros nos limitaremos á resumirlos, poniéndolos en relación con los datos que se refieren á la estructura celular de los embriones aún circulantes en la sangre del mamífero, según la describimos en las páginas precedentes de este trabajo.

El primer período larval empieza desde el momento en que los embriones se encuentran, como hemos dicho, definitivamente encerrados dentro de las células de los tubos malpigianos, veinticuatro ó treinta y seis horas después de haber sido introducidos en el organismo del huesped invertebrado.

Durante este primer período, los embriones son caracterizados por un acortamiento muy considerable de su cuerpo, siendo la medida media, al tercer día, de 135 á 140 μ. (Como hemos visto, la dimensión de los embriones en la sangre alcanza 350 á 370 μ.). Al propio tiempo, el diámetro transverso aumenta de tal suerte que llega de 18 á 20 μ. Las disposiciones celulares embrionarias han empezado entre tanto su evolución, distinguiéndose, sobre todo, el agrupamiento de células glandulares que siguen al intestino quilífero, y que están en relación evidentísima con la vesícula posterior, muy gorda, muy clara, llena de líquido, sin comunicar con el ambiente exterior. Las demás disposiciones celulares, gónade, vesícula ó glándula anterior, células entodérmicas, se reconocen muy claramente, casi en la misma forma aún en que han sido descritas anteriormente en los embriones. Pero lo que es característico es el engruesamiento de la vesícula posterior, que se ve sobresalir del borde cuticular, en extroflexión, quedando en tal forma también durante las fases sucesivas del desarrollo. El esbozo del intestino posterior, representado por dicha vesícula posterior y por las pocas células que siguen al intestino quilífero, no comunica aún, por lo tanto, con éste y con el intestino medio.

Al término del primer período, es decir, al tercer ó cuarto día, ya empiezan otra vez las larvas á aumentar en longitud, y siguen luego así, mientras que permanezcan en los órganos uriníferos del mosquito.

Durante el *segundo período* viene formándose alrededor del cuerpo, debajo de la capa de cutícula embrionaria, una segunda capa cuticular, que constituye más tarde, en los últimos períodos de desarrollo, la verdadera *cuticula larval*, y debe sustituir la cutícula embrionaria. Los movimientos que las larvas pueden hacer, son muy reducidos y escasos en este momento. La extremidad caudal se acorta y se incurva, siendo apro-

vechada, muy probablemente, para fijar el cuerpo á las células de los tubos malpigianos. La glándula anterior aparece muy clara, con su abertura exterior; las distintas porciones del intestino anterior y medio van estableciéndose con sus propios caracteres; pero la comunicación entre el intestino medio y el posterior, no existe aún en este período. La disposición singularísima de la vesícula posterior sobresaliente, se acentúa aún más, y á pesar de que su oficio y función particular no se pueden determinar tan fácilmente, es muy posible, según piensa G. Noé, que sirva para que las larvas puedan mejor detenerse y fijarse entre las células de los tubos de Malpighi, sobre todo en este período y en los sucesivos, cuando más rápido es el aumento de sus dimensiones.

Durante el segundo período, el esbozo de los órganos sexuales (gónade), ya constituído por un pequeño agrupamiento de células, se encuentra en correspondencia del límite entre el intestino anterior y el intestino medio, es decir, bastante más hacia adelante que en la disposición morfológica embrionaria. Puede verse en este período el anillo nervioso periesofágico ya constituído.

El *tercer período* de desarrollo larval empieza con el séptimo día, y es caracterizado por un rápido alargamiento del cuerpo, que llega á los 450 y 500 μ, quedando el diámetro transverso en un máximo de 20 á 22 μ. Al término de este período, entre el noveno y décimo día, tres modificaciones importantes se cumplen en las larvas, es decir, el cambio de la cutícula embrionaria, la cual queda abandonada (como *exuvies*), por la cutícula definitiva ó larval; y contemporáneamente, la apertura de la comunicación entre el intestino medio y el posterior; por fin, la rotura de la vesícula posterior sobresaliente, en el ambiente exterior; de modo que, en esta última fase, queda establecida la comunicación directa del tubo intestinal con el exterior.

Desde este momento (*cuarto período*), las larvas pueden ya considerarse como maduras; pero sus movimientos aún no son tan vivos que puedan permitirles salir desde los tubos malpigianos, donde se encuentran encerradas. Sólo después de cierto tiempo (uno á dos días), los movimientos de las larvas habiendo aumentado de intensidad y vivacidad, logran éstas, con sus golpes repetidos, romper la continuidad de la membrana anista basal é introducirse en el *lacunoma* del huesped, en la cavidad general del cuerpo del mosquito.

La dimensión máxima de las larvas en este último período de desarrollo en el huesped invertebrado, alcanza los 900 μ; casi nunca llegan á un milímetro, siendo su diámetro transverso de 19 á 20 μ. Trátase, por lo tanto, de pequeños organismos extraordinariamente delgados. Pero su organización y estructura celular son ya bastante adelantadas, á pesar de

las notables diferencias que aún se encuentran entre ellas y la morfología del gusano adulto estudiado en el mamífero.

La migración definitiva de las larvas, llegadas á este punto de su desarrollo, desde el *lacunoma* del díptero á la sangre del mamífero, constituye un hecho biológico muy interesante. Según queda demostrado por las investigaciones de Noé, Grassi, etc., las larvas penetran rápidamente, después de su salida desde los tubos de Malpighi hasta en las prolongaciones del lacunoma en el *labium*. La cavidad del lacunoma en el labium es relativamente pequeña, y no caben en ella gran número de larvas: á veces se encuentran allí seis, ocho, diez y más de éstas. Pero este número ya es suficiente para que las paredes del órgano sufran un extendimiento excesivo, aumentando correspondientemente su fragilidad. Ahora bien, en el momento en que el mosquito se dispone para picar al mamífero (perro), y los estiletes de su trompa penetran en el cutis, el *labium* se repliega debajo de ellos, disponiéndose con una curva de convexidad muy acentuada, á veces casi constituyendo un ángulo agudo; y en este punto, cuando sus paredes son demasiado extendidas por la presión de las larvas aglomeradas en su interior, se rompe y permite la salida de estas mismas larvas en correspondencia de la herida cutánea representada por la picadura. A través de esta herida penetran todas ó algunas de las larvas que han logrado por este singular mecanismo salir del huesped invertebrado; y así se introducen en el círculo sanguíneo del mamífero, donde se desarrollan definitivamente en su forma de gusanos adultos y—si hay ejemplares de ambos sexos—se fecundan y dan lugar á nuevos ciclos embrionarios (1).

(1) El día 15 de Febrero último, en el Instituto de Higiene de Alfonso XIII, tuvimos la ocasión, juntos con el Dr. D. Dalmacio García, de ejecutar la autopsia de una perra filariosa, que nos había servido para nuestras observaciones, desde el mes de Agosto de 1903, en Navalmoral de la Mata. Esta perra no revelaba síntomas muy notables atribuibles á la presencia del parásito: había parido en el mes de Diciembre último, siendo los hijos vitales y en buenas condiciones orgánicas. La presencia de embriones en la sangre periférica se demostró constante, desde Agosto de 1903 hasta el 15 de Febrero de 1904. El número de embriones parecía obedecer á un ligero ritmo accesional, siendo más abundantes en la sangre periférica durante las horas de la noche, ó en general cuando el animal se encontraba en período de descanso orgánico.

La fórmula hemoleucocitaria varió notablemente desde los primeros exámenes de la sangre hasta los últimos. En los últimos tiempos se encontraron 15.800 leucocitos por milímetro cúbico, predominando siempre los polinucleares.

La autopsia demostró la presencia en la sangre del ventrículo derecho y arterias pulmonares, de dos agrupamientos muy estrechos constituídos por *siete Filarias* adultas, tres machos y cuatro hembras.

EL APARARATO TUBULIFORME DEL EPITELIO INTESTINAL

DE LOS MAMÍFEROS

POR

S. R. CAJAL

En nuestro trabajo anterior sobre los efectos del método del nitrato de plata reducido (1), hemos descrito las redes de Golgi, que aparecen en las células nerviosas y epitélicas de los vermes. El aparato tubuliforme en cuestión, se nos presentó constantemente en los epitelios, entre la superficie libre y el núcleo, y en las neuronas, entre la porción culminante del soma y el órgano nuclear. La nota actual versará sobre el epitelio intestinal de los mamíferos, donde el citado proceder, aplicado en los animales recién nacidos, da muy buenos resultados.

El encuentro, en los corpúsculos epitélicos de los mamíferos, de un aparato reticular semejante al descrito por Golgi en las células nerviosas, tiene dos antecedentes importantes. Fué Negri (2) quien primeramente lo observó, sirviéndose del método del sabio de Pavía, en varias categorías de células glandulares, singularmente en las pancreáticas, presentándosele con caracteres análogos al del aparato tubular hallado por nosotros en los invertebrados, es decir, bajo la forma de un glomérulo de trabéculos gruesos, varicosos, unidos en red y situados entre el núcleo y la luz glandular.

También Holmgren (3) ha descrito en las células intestinales y glán-

(1) *S. R. Cajal*: Un sencillo método de coloración de las neurofibrillas, etc. *Trab. del Lab. de Inv. biol.*, tomo VII, 1903.

(2) *Negri*: Di una fina particularitá di struttura delle cellule di alcune ghiandole dei mamiferi. *Boll. Soc. med. chir. di Pavia*, núm. 1, 1900.

(3) *Holmgren*: Ueber die Trophospongien der Darmepithelzellen. *Anat. Anzeiger*, núm. 21, 1902.

Véase también:

— Ueber die Trophospongien der Nervenzellen. *Anat. Anzeiger*. Bd. 24, 1904.

— Ueber die Trophospongien der Nebenhodenzellen und der Lebergangzellen von. *Helix pomatia*. *Anat. Anzeiger*. Bd. 22, 1902.

dulas de Lieberkuhn, un aparato tubular mucho más sencillo que el correspondiente de los invertebrados. Redúcese á una red de lagunas ó senos dispuestos en pelotón residente entre el núcleo y la chapa de la célula. Pero añade este sabio dos hechos que, de ser ciertos, prejuzgarían el carácter funcional del referido aparato, á saber: la comunicación de los tubos con los espacios interepiteliales, y la penetración dentro de los mismos, de unos cordones protoplásmicos ramificados (*trophospongium*), procedentes de ciertas células estrelladas, yacentes entre los elementos epiteliales. De existir semejante disposición, que Holmgren generaliza á los elementos nerviosos, los referidos conductos vendrían á ser una prolongación del sistema lacunario linfático intersticial, y el *trophospongium* ó cordones penetrantes, algo así como un aparato vector alimenticio.

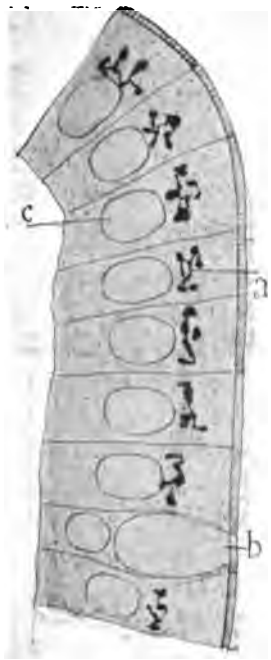


Fig. 1. — Trozo de un corte longitudinal de una vellosidad del conejo de Indias recién nacido.—*a*, aparato tubular; *b*, célula caliciforme; *c*, núcleo. (Método del nitrato de plata reducido).

La teoría del *trophospongium* no está en armonía con los resultados del método de Golgi (Golgi, Veratti, Negri, etc.), ni con los efectos de otros procedimientos de coloración. Así Kopsch (1) y Misch (2), que han utilizado el ácido ósmico para la impregnación de la red de Golgi, niegan las comunicaciones con el exterior y la penetración de los filamentos exógenos. Soukanoff (3) y nosotros (4) no hemos visto tampoco semejantes comunicaciones en las pirámides cerebrales. En fin, según hicimos notar en nuestro anterior trabajo, los tubos intraprotoplásmicos de los invertebrados forman glomérulos pocas veces anastomosados y jamás comunicantes con el exterior. Solamente en el epitelio intestinal de la sanguijuela hemos hallado tubos desembocados debajo y á los lados de

(1) *Kopsch*: Die Darstellung der Binnennetzes in spinalen Ganglienzellen, &. *Sitzungber, der. kgl. preuss. Akad. der Wiss. zu Berlin.* Bd. 40, 1902.

(2) *Misch*: Das Binnennetz der spinalen Ganglien, &. *Int. Monatschr. f. Anat. u. Physiol.* Bd. 20. Heff. 10-12, 1903.

(3) *Soukanoff*: Sur le réseau endocellulaire di Golgi dans les élements nerveux de l'écorce cérébrale. *Le Neuraxe.* Vol. IV, 1903.

(4) *Loc. cit.*

las células; pero dudamos que este aparato tubular, cuya morfología y situación son muy singulares, corresponda positivamente á la red endocelular de Golgi.

La cuestión, pues, es interesante y merece ser nuevamente examinada á la luz de un nuevo procedimiento de teñido, que lleva al de Holmgren la ventaja de poder ser aplicado á cortes espesos, y la de proporcionar imágenes de una grandísima claridad. En la fig. 1, *a*, mostramos un trozo de corte longitudinal de una vellosidad del intestino del *cavia cobaya* recién nacido.

El nitrato de plata se ha reducido bajo la forma de un finísimo precipitado granuloso de color café obscuro, dentro del citado aparato tubu-

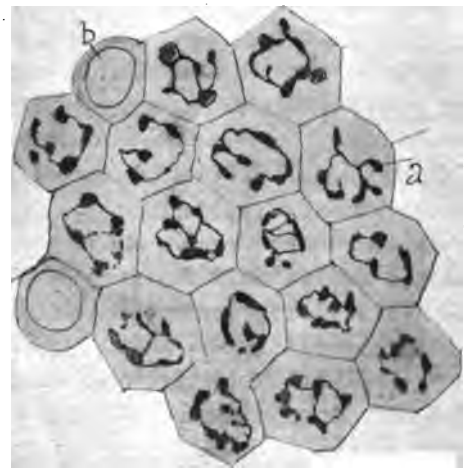


Fig. 2.—Corte paralelo al epitelio de una vellosidad (conejo de Indias recién nacido). *a*, aparato tubular; *b*, célula caliciforme vista de punta.

lar, respetando completamente el resto de la célula. Nótese que la posición y forma de los conductitos coinciden esencialmente con las descripciones de Holmgren. Solamente se advierte que la red es menos complicada de lo que este autor supone, faltando frecuentemente las anastomosis. Glomérulos hay dispuestos bajo la forma de un conducto encorvado, flexuoso y provisto de dilataciones cavernosas. En algunas células la forma general recuerda completamente el núcleo de los leucocitos, habiendo divertículos cuya continuidad con el resto del aparato parece interrumpida.

Comparando los cortes longitudinales con los paralelos al plano epitelial (fig. 2), se echa de ver un rasgo interesante: el glomérulo posee for-

ma aplanada, disponiéndose con todas sus revueltas en un plano ó zona muy inmediata al núcleo. Así que, en los cortes longitudinales de las vellosidades, no es posible juzgar bien de la forma del aparato tubular.

Todas las células epitélicas de chapa, sin excepción, poseen un glomérulo. En las caliciformes falta, sin embargo; diríase que la licuación del protoplasma, en la época de la formación del cáliz, ha destruído el aparato tubular. En fin, las glándulas intestinales poseen asimismo un glomérulo situado en el mismo paraje que el del epitelio de las vellosidades, pero algo más pequeño y con menos revueltas.

El hecho más importante sobre el cual queremos llamar la atención es este: en ningún caso los tubos referidos comunican con el exterior ni reciben expansiones de elementos estrellados. La existencia misma de los corpúsculos interepiteliales de Holmgren nos parece dudosa, y creemos que este autor ha tomado por tales algún leucocito deformado y eventualmente emigrado en el cemento interepitelial. En nuestro concepto, la teoría del *trophospongium* no sería, pues, aplicable sino á casos muy especiales, quizás solamente á las grandes neuronas de los gasterópodos, en las cuales el enorme volumen del protoplasma exigió un sistema complementario de conductos nutritivos.

Por lo demás, el glomérulo en cuestión nos parece formado de tubos y no de hilos sólidos. Y nos fundamos para profesar esta opinión en que, en los preparados comunes bien fijados, se observa constantemente, al nivel del aparato, un sistema de huecos ó vacuolas comunicantes.

El procedimiento del nitrato de plata colorea, sin duda, alguna substancia contenida en tales senos, substancia que sería probablemente rica en albuminoides ó en cloruro de sodio.

En suma, las citadas observaciones, sin aportar nuevos argumentos en apoyo de nuestra hipótesis de que semejante aparato vacuolado representa la vesícula pulsátil de los infusorios, no la contraría, antes bien armoniza perfectamente con ella.

DISPOSICIÓN MACROSCÓPICA Y ESTRUCTURA DEL CUERPO GENICULADO EXTERNO

POR

FRANCISCO TELLO

Ayudante del Laboratorio de Histología de la Facultad de Medicina de Madrid.

Colocado el cuerpo geniculado externo como estación intermedia en la marcha de las corrientes nerviosas desde la retina al cerebro, de interés era el desentrañar su estructura, contribuyendo al conocimiento del *substratum* anatómico de función tan importante; pero este interés se acrece en extremo, desde que los trabajos de Monakow, Forel, Ganser, Honneger, etc., por el procedimiento indirecto de las degeneraciones, y de Pedro Ramón, y S. R. Cajal, Kölliker, etc., por la apreciación directa de las fibras teñidas por el método de Golgi, han demostrado de modo evidente, que dicho ganglio es el principal colector de las fibras ópticas procedentes de la retina y que de él emanan los conductores destinados á llevar á la corteza occipital las excitaciones productoras de la visión mental.

Tres son los centros ópticos que se pueden considerar como primarios, á ejemplo de Monakow y otros autores: el *tubérculo cuadrigémino anterior*, el *cuerpo geniculado externo* y el *pulvinar*.

De los tres centros ópticos primarios, el que antes aparece en la serie filogénica es el tubérculo cuadrigémino anterior, aunque después queda relegado á un lugar muy secundario, como estación de los reflejos que de la función visual se derivan, á causa de haber emigrado la percepción visual á otro centro superior. El cuerpo geniculado externo es más tardío en aparecer, pero su importancia va aumentando gradualmente, de modo que en el gato y perro, animales de que principalmente me he servido en mis experimentos, recibe la mayor parte de las fibras ópticas, y en el hombre, si bien es verdad que sus dimensiones son menores en relación con las del tálamo, como indicando una disminución en su papel fisiológico, los muchos pliegues que presenta y el gran número de fibras que recibe (80 por 100, según Monakow), nos hace ver que su valor fisiológico no ha decrecido, y por el contrario, más bien se ha aumentado. El papel que al pulvinar atañe es poco conocido; en todo caso, las observaciones anatomo-

patológicas parecen demostrar que sus células no dan fibras para la visión mental. En cuanto á otros focos, como el de la *cinta óptica*, descubierto por mi maestro (1) en el ratón y conejo y el *núcleo accesorio* de la vía bigeminal óptica, probablemente representan también centros pro ductores de reflejos visuales.

Mis investigaciones macro-microscópicas han versado exclusivamente sobre el *cuerpo geniculado externo*, habiendo usado el método de Marchi, Nissl y Golgi, y trabajado de preferencia en el gato y perro.

En dos partes podemos dividir la exposición metódica de los resultados obtenidos de nuestros trabajos: 1.ª, disposición macroscópica, y 2.ª, estructura.

I. — Disposición macroscópica

Fácil de comprender es que no nos vamos á ocupar de su aspecto exterior, pues que éste ha sido descrito hace ya muchos años, y repetir lo que en cualquier libro se puede encontrar, no vendría á cuento. Sabido es que en éste como en otros núcleos nerviosos, la parte que hace eminencia al exterior no es, ni mucho menos, la totalidad del ganglio, y que á la investigación de su disposición interior, á la par que de su estructura, se han dedicado muchos autores: Ganser, Tartuferi, Monakow, Kölliker, Cajal, Déjerine, etc. De los trabajos de unos y otros parecía haberse llegado á la conclusión de que el cuerpo geniculado externo estaba formado por dos núcleos (fig. 1, [1]): *cuerpo geniculado lateral dorsal*, mayor y superior, que era el que verdaderamente hacía eminencia al exterior, y el *cuerpo geniculado lateral ventral*, colocado por debajo de aquél y ambos en situación periférica; y si bien es verdad que esta disposición se encuentra en los roedores, sobre todo en el conejo, en el que ambos focos aparecen separados por una línea de substancia blanca, en otros mamíferos, como el gato, el aspecto que se presenta en los cortes por los métodos de Marchi y Nissl, es diferente. Se siguen observando también dos núcleos en los cortes medios posteriores del ganglio, uno externo superior y mayor, colocado periféricamente haciendo eminencia, *lóbulo dorsal* de Cajal, y otro interno inferior, menor y profundo, *lóbulo redondo* de Cajal; pero en los cortes anteriores sólo se observa un núcleo redondeado, grande y profundo, que es el representante del segundo; y por último, en los más posteriores hay uno sólo periféricamente colocado. Estos diferentes aspectos se ven con claridad con el método de Marchi, cuyos cortes presentan ambos focos separados por una gran vía de fibras

(1) *S. Ramón y Cajal*: *Trab. del Lab. de Inves. biol.*, tomo II, 1902.

degeneradas (fig. 2, [1]); mas en los cortes teñidos según el método de Nissl, ya se ofrecen algunas dudas, ocurridas con anterioridad, á nuestro maestro en vista de estos mismos hechos.

Para resolverlas, hicimos por el método de Nissl tres series de cortes: uno de secciones frontales, otra de horizontales y la tercera de anteroposteriores, comprendiendo el cuerpo geniculado en su totalidad; exami-

Fig. 1.—1, corte frontal del tálamo del conejo, tomado de Kölliker, para demostrar la distribución que se daba antes á los dos núcleos; C, G, L, D, cuerpo geniculado lateral dorsal; C, G, L, V, cuerpo geniculado lateral ventral; 2, 3 y 4, cortes frontales del tálamo del gato (semiesquemáticos); 2, al nivel de la convexidad de la cola; 3, por la concavidad de la misma; 4, en la unión de cabeza y cola; C, G, E, cuerpo geniculado externo; N, M, núcleo del motor ocular común; N, R, núcleo rojo; M, O, C, motor ocular común; N V, núcleo accesorio ó ventral. (Método de Nissl).

nada la serie frontal, las sospechas adquirieron el relieve de certidumbre dentro de nuestra conciencia, pues vimos cómo los núcleos se iban continuando unos con otros sin verdaderas fronteras separatorias; pero fueron las series horizontal y anteroposterior las que dieron completa

confirmación de ellas, sobre todo la última, que nos permitía observar el núcleo en toda su extensión. En los cortes anteroposteriores, el ganglio se nos presenta con forma de vírgula ó coma (fig. 2, [2]), con una porción gruesa y redondeada cabeza, que es anterior, inferior é interna, y otra alargada y delgada cola, que es posterior, superior y externa; aquélla incluída dentro del tálamo, ésta superficial, formando por su convexidad la eminencia conocida con el nombre de ganglio. En los horizontales se observa

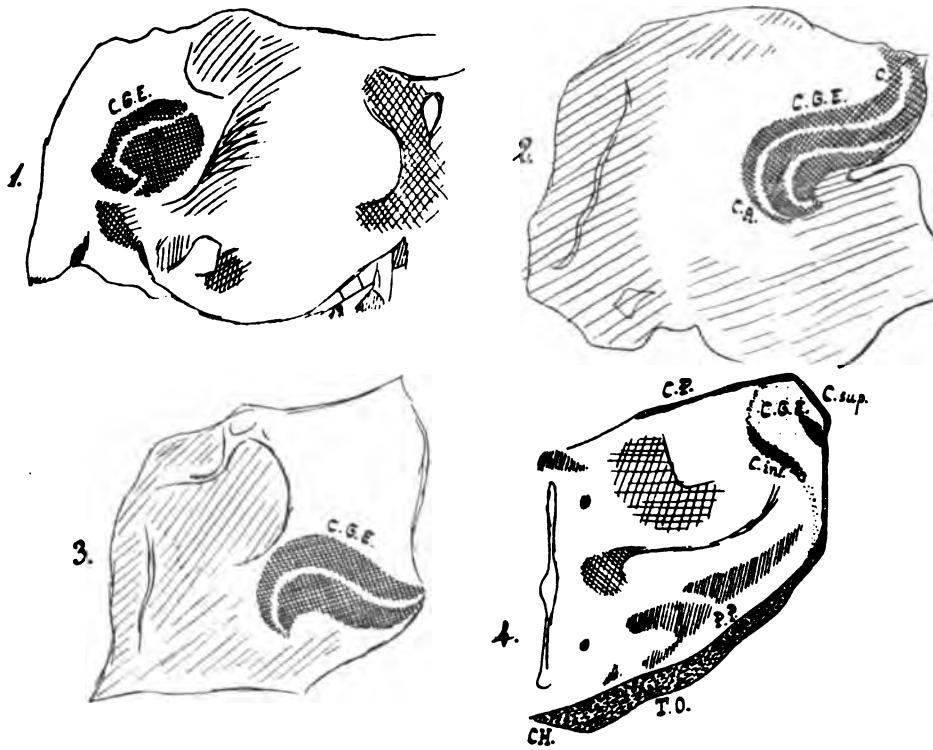


Fig. 2.—1, corte frontal al nivel de la cabeza; 2, anteroposterior; 3, horizontal, del tálamo del gato (semiesquemáticos); C, G, E, cuerpo geniculado externo; C, cola; C, A, cabeza; 4, mitad izquierda de un corte frontal (semiesquemático) del tálamo de un gato á quien se había extirpado quince días antes el ojo derecho (método de Marchi); C, H, quiasma; T, O, cinta óptica; P, P, fascículo piramidal; C, *inf.*, corriente inferior; C, *sup.*, corriente superior; C, P, corriente bigeminal.

una forma semejante con la cabeza interna y la cola externa (fig. 2, [3]); algún autor, como Kölliker, representa en su obra *Handbuch der Gewebelehre des Menschen*, págs. 550 y 551, secciones horizontales en que se ve la forma verdadera del núcleo; pero el no haber hecho la serie completamente y tratarse de dos porciones que ocupan planos diferentes, no

le permitieron sospechar el hecho. Tanto unos como otros, á la par que nos demostraban la verdadera disposición del ganglio, nos hacían comprender el por qué de los diferentes aspectos que se ven en los cortes frontales, principalmente observados por los demás autores; en efecto, si hacemos el corte frontal al nivel de la convexidad de la cola, el ganglio aparecerá único y superficial, rodeado por todas partes de fibras del tractus y como separado del resto del corte (fig. 1, [2]); hecho éste por la concavidad de la cola de modo que queden seccionadas las dos extremidades del arco que forma, se presentan separados por una parte de substancia blanca (fig. 1, [3]); por delante, ya no se secciona más que la unión de la cabeza á la cola primero (fig. 1, [4]), y esta solamente después y como es más voluminosa y redondeada que aquélla, en los cortes va apareciendo el núcleo único (*núcleo redondo de Cajal*), cada vez más redondo y más grande, hasta que se termina rápidamente por ser también redondeado de delante á atrás (fig. 2, [1]).

Si hacemos el mismo estudio en el hombre, observamos que tanto en unos como en otros, no podemos apreciar sino un sólo núcleo, homólogo, según Tartuferi, del núcleo ventral, que, como veremos, es la porción más importante y á la que van á parar mayor número de fibras del *tractus opticus*, aunque, según Monakow, sólo tendría relación con fibras cortico-talámicas. Ahora bien, este ganglio (fig. 4, [4]), que tiene forma rectangular tanto en los cortes frontales como en los anteroposteriores, con el eje mayor dirigido hacia abajo y afuera en los primeros, y casi vertical ó ligeramente oblícuo en los segundos, se encuentra dividido en una porción de láminas grises, separadas por otras de substancia blanca, pero todas desiguales é irregulares en su forma, si bien tienden á una estratificación análoga á la peculiar del gato, constando de más capas, de éstas unas más delgadas que en este animal, y otras más gruesas, conformación debida indudablemente á la necesidad de aumentar la superficie sin recurrir al aumento de volumen, hecho que se encuentra en otros muchos puntos del sistema nervioso. Este núcleo ocupa una situación superficial, completamente rodeado por las fibras del *tractus opticus*, que aquí es sumamente robusto.

Más dificultades presenta el establecimiento de las homologías de estos núcleos con los de los roedores, cuerpos geniculados laterales, dorsal y ventral de Kölliker, foco superior é inferior de Cajal, pues realmente no se corresponden por su situación y aspecto con los dos que aparentemente se observaban en el gato; en su *situación*, porque estos dos son superficiales; en su *aspecto*, porque al revés de lo que ocurre en el gato, el más importante es el dorsal. Ahora bien, si miramos con una lente los cortes medios del gato (fig. 1, [4]), en que no se ve sino el principio de la

cola, se advierte que debajo de este ganglio y separado por una lámina de substancia blanca, sobre todo por su parte externa (porque en la interna no se hace bien la separación), hay en pleno *tractus* un pequeño núcleo triangular que pudiera representar el cuerpo geniculado lateral ventral, así como el cuerpo geniculado lateral dorsal es representado por el núcleo principal. Por lo demás, este pequeño núcleo no aparece claramente en mis secciones anteroposteriores teñidas por el método de Nissl; pero se presenta de un modo evidente en los preparados de Golgi, puesto de relieve por una vía de colaterales del *tractus*, que se dirige á esta región.

En resumen, podemos decir que en el gato, perro y hombre, el *cuerpo geniculado externo* está constituído por un solo *núcleo principal* que afecta forma y situación diferentes en los distintos animales, y otro *pequeño ó accesorio* colocado por debajo de éste, y que sólo se presenta en algunos de ellos.

II. — Estructura

Ya á simple vista y mejor ayudados por una lente, podemos ver que el cuerpo geniculado externo presenta en los preparados de Nissl substancia blanca y gris; aquélla formando una cubierta superficial que rodea al núcleo con diferente espesor, según las regiones. Forma la substancia blanca dos láminas medulares que le dividen en tres pisos; éstos y las dos láminas sólo se observan por completo en la cabeza y primera parte de la cola, porque en su parte posterosuperior desaparece la lámina inferior, quedando, por consiguiente, sólo dos pisos que se conservan ya hasta el final.

Aplicando otros métodos (Marchi, Golgi), además del anterior, podemos distinguir fibras y células diferentes, y para describirlas con orden seguiremos la marcha de las corrientes, adaptándonos al método que emplea nuestro maestro para la descripción del cuerpo geniculado y otros muchos núcleos en su *Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados*. Así, pues, empezaremos la descripción por la terminación de las fibras ópticas, continuándola con la de las células y sus axones que forman la corriente aferente, y concluyéndola por la de las fibras que, procedentes de la corteza, se terminan en este núcleo y la de las láminas medulares.

1.° **Fibras del tractus opticus ó aferentes.** — Si con un pequeño aumento examinamos una preparación del método de Marchi, de la parte posterior del tálamo del gato, comprendiendo los cuerpos geniculados externos, después de haber extirpado un ojo y orientado algo oblícuamente

el corte, de modo que sorprendamos la mayor extensión posible de la cinta, podemos apreciar lo siguiente (fig. 2, [4]): la cinta óptica presenta en los dos lados abundantes gotas de grasa, algo más en la opuesta al ojo extirpado, y éstas se disponen irregularmente en la masa de la cinta, sin que nos haya sido posible separar regiones diferentes correspondientes á los fascículos homo y contralaterales; una vez llegado á la parte inferior del cuerpo geniculado, se divide aparentemente en dos corrientes llamadas superior é inferior por Cajal; la inferior, mucho más gruesa, penetra en el espesor del núcleo, separando las dos partes que antes se consideraban en él, y que aquí, á causa de la oblicuidad del corte, se muestran con gran claridad; una vez en este punto, la mayor parte se incurva para terminar en la cabeza; pero una pequeña parte, en los cortes posteriores, sigue su camino ascendente hasta unirse con la otra corriente por encima del cuerpo geniculado. La corriente superior continúa por la región periférica del ganglio agotándose gradualmente, pero no por completo, pues que una corta porción, unida con la precedente de la corriente inferior, continúa su camino por la superficie dorsal del tálamo correspondiente al pulvinar. Si observamos cortes cada vez más posteriores, veremos que de esta confluencia parten las fibras que se dirigen al tubérculo cuadrigémino anterior; en cambio, cuando los cortes se dan por delante del cuerpo geniculado y pulvinar, en el tálamo no se ve degeneración, porque indudablemente las fibras del *tractus* terminan por completo en estos centros ópticos primarios, y como afirmaba nuestro maestro, «no hay, á pesar del dictamen de algún autor, ninguna vía retino-cerebral directa, ni tampoco comunicaciones entre el *tractus* y la habénula y otros focos talámicos».

En los núcleos, tanto dorsal ó cola como redondo ó cabeza, la degeneración se presenta también en los dos lados, más en el opuesto al ojo extirpado y más en el inferior que en el superior; y vuelvo á repetir que estos dos núcleos son resultado de la orientación de los cortes, que el núcleo es único, y que si empleo estos nombres de dorsal ó cola, etc., es para facilitar la descripción. Una cosa análoga podemos decir de las corrientes, pues también son resultado del modo de hacer los cortes; realmente, estos nombres de corriente superior é inferior pueden subsistir, porque la cabeza recibe una gran parte de las fibras de la cinta, y como han de distribuirse en una región grande, penetrando por una porción muy limitada de su superficie, presentan el aspecto de una robustísima vía; en cambio, la parte destinada á la cola, que además de agotarse en su espesor menor, tiene una extensa puerta de entrada por la parte convexa, se nos ofrece en todos los cortes como mucho menos robusta; pero para que estos nombres subsistan, es necesario hacer constar que la vía óptica

no se divide, sino que se presenta en todos los momentos única y continua, cuando se estudian cortes anteroposteriores teñidos por diferentes métodos.

En los roedores es también otro el aspecto en relación con la distinta morfología que presenta el núcleo; al llegar la vía óptica á la parte baja del foco inferior, una gran parte de las fibras continúa su trayecto periférico, en tanto que otras siguen un camino paralelo al través del ganglio, reuniéndose, después de dejar multitud de fibras y colaterales, en la parte alta para retroceder en busca del tubérculo cuadrigémino anterior, porque en estos animales probablemente no hay vestigios del pulvinar.

En el hombre, las fibras rodean por todas partes al núcleo y forman, además, las láminas blancas irregulares que le dividen, y aunque en él se terminan las cuatro quintas partes de las fibras, las restantes traspasan el cuerpo geniculado externo, penetrando en el pulvinar.

El hecho de ser el cuerpo geniculado externo punto de terminación de las fibras ópticas, era conocido hace mucho tiempo desde que el procedimiento de las degeneraciones y el de las atrofias de Gudden, habían sido aplicados por Monakow (1), Forel (2), Ganser, Honneger, etc., al conocimiento de las vías ópticas. Ya algunos autores, como Marchi (3) y Tartuferi (4), habían hecho ensayos infructuosos para colorear las terminaciones ópticas por el método de Golgi. Cabe á Pedro Ramón Cajal la honra de haber sido el que por primera vez observó estas ramificaciones (5). Después han sido vistas por su hermano (6), Kölliker (7), Edinger (8) y Van Gehuchten (9).

También por nuestra parte hemos podido observar estas terminacio-

(1) *Monakow*: *Arch. f. Psych.*, Bd. XX, 3.

(2) *Forel*: *Arch. f. Psych.*, XVIII.

(3) *Marchi*: Sulla structtura dei Talami ottici, *Rev. Sperimentale de Freniatria*, 1884-85.

(4) *Tartuferi*: Studio comparativo del tratto ottico é dei corpi geniculati nell'uomo, nelle scimie é nei mamiferi inferiori. Torino, 1881.

(5) *P. Ramón Cajal*: *Gaceta sanitaria de Barcelona*, 1890, núm. 1. Investigación sobre los centros ópticos de los vertebrados. Tesis, 1890, Barcelona. El encéfalo de los reptiles, Barcelona, 1891. Investigaciones micrográficas sobre el encéfalo de los batracios, reptiles, cuerpos geniculados y tubérculos cuadrigéminos de los mamíferos, Zaragoza, 1894.

(6) *S. R. Cajal*: Apuntes para el estudio del bulbo, cerebelo y origen de los nervios encefálicos, Madrid, 1894.

(7) *Kölliker*: Verh. der Anatom. Gesellsch. in Strassburg, Abril, 1895, y Handbuch der Gewebelehre des Menschen, Leipzig, 1886, 6.ª edición, Bd. II, pág. 585.

(8) *Edinger*: Nervosen Centralorgane, 5.ª edición, 1898.

(9) *Van Gehuchten*: Anatomie du systeme nerveux de l'homme. Vol. I, 1900.

nes, con la ventaja de que la orientación anteroposterior de nuestros cortes, nos ha permitido reconocer una disposición sumamente bella de las ramificaciones, que hasta ahora no había sido descrita, sino en parte, por nuestro maestro (1), que afirma en la pág. 574, cómo al llegar las fibras ópticas al ganglio inferior, se abren en forma de abanico, disponiendo las ramificaciones en estratos á modo de retina espesa, y en cambio, esta disposición se pierde en la corriente superior, porque las ramificaciones se hacen irregulares; pues bien, nuestras preparaciones nos permiten afir-

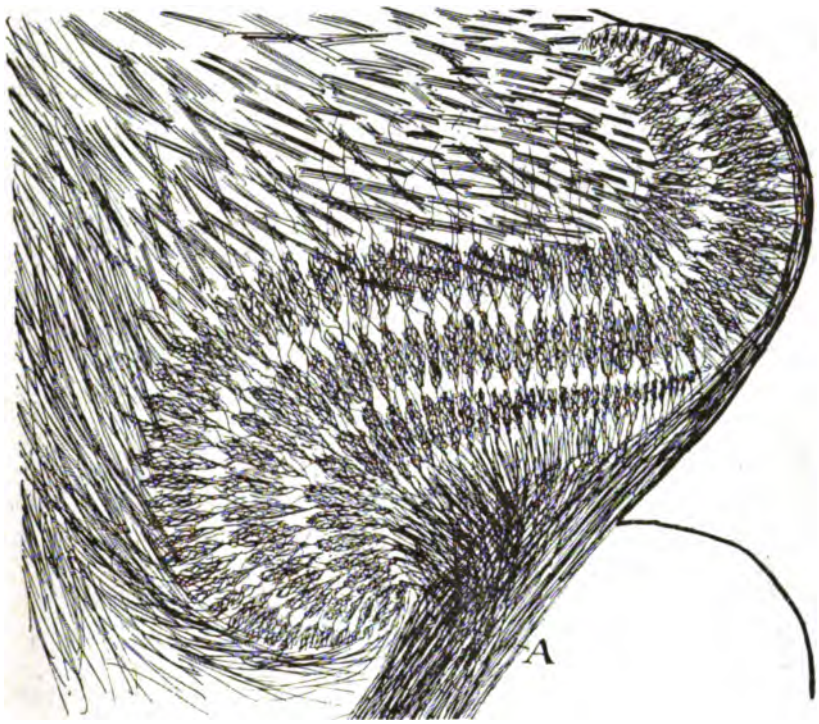


Fig. 3. — Corte anteroposterior del cuerpo geniculado externo, por el método de Golgi, donde se ve la ramificación de las fibras retinianas. — A, cinta óptica.

mar que, así como en su disposición macroscópica el ganglio es único, lo es también en su disposición estructural y que esta disposición, observada por Cajal en la cabeza, se presenta en todo el núcleo.

Las fibras penetran en el núcleo (fig. 3, A) por la parte periférica, tanto en la cabeza como en la cola, y una vez dentro, se descomponen en tres series de arborizaciones espesas y alargadas á modo de cipreses; estas

(1) *S. Ramón Cajal:* Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados, 6.° fascículo, Diciembre, 1902, pág. 662.

tres series se corresponden con los tres pisos que en los preparados de Nissl, Marchi é hidroquinona, aparecen separados por las láminas medulares; y como antes dijimos, las tres series no se presentan sino en la cabeza y parte media, porque en la cola hay dos solomente que se van adelgazando hasta terminar. Las diferentes arborizaciones no son independientes unas de otras, estando unidas las más próximas por un gran número de ramitos, de modo que su disposición aparente está determinada por un fuerte acúmulo de ramas en estos lugares.

Las series se disponen no sólo de arriba á abajo, sino transversalmente, formando á modo de radios de las curvaturas que presenta el ganglio; y esta es la razón del diferente aspecto que ofrecen las arborizaciones, según la orientación de los cortes, y de que aparezcan también los pisos en los cortes frontales y horizontales, según la región del ganglio; se comprende, observando la figura 3, que representa un corte anteroposterior completo, que si se da un corte frontal al nivel de la cola y de la cabeza, las arborizaciones serán seccionadas de través, y en cambio, en la parte media, podrá verse la estratificación, porque resultan cortadas á lo largo. En los cortes horizontales, por el contrario, las arborizaciones medias serán cortadas de través, y las de los extremos á lo largo, por lo que será posible en éstas y no en aquéllas la disposición en pisos; por último, los cortes oblícuos presentarán una estratificación más ó menos manifiesta y las arborizaciones más ó menos redondeadas, según la oblicuidad. También el aspecto del corte transversal de las arborizaciones es sumamente característico y capaz de hacernos reconocer el cuerpo geniculado externo allí donde se encuentren; son redondeadas y están formadas por unas ramitas muy tortuosas y con numerosos cruces y recodos.

Examinados estos preparados de Golgi con un aumento mayor, se ve, como había observado ya Cajal, que la fibra se bifurca y trifurca repetidas veces, entrecruzándose las ramitas de una y otra hasta formar una arborización sumamente espesa; obsérvase igualmente que á la formación de cada arborización contribuye más de un tubo nervioso, por regla general, ya directamente, ya por intermedio de ramitas que saltan de unas á otras. Los cilindros-ejes formadores de las arborizaciones del piso superior, se comportan diferentemente al atravesar los pisos inferiores; la mayoría emiten ramitas para las de estos pisos, llegando algunas hasta desempeñar un papel principal, y otras, las menos, no producen ramos.

En cada arborización obsérvase, según su tamaño, de cuatro á diez espacios claros correspondientes á los cuerpos celulares que quedaron sin teñir; hecho que, según el sentir de nuestro maestro, vendría en apoyo de la hipótesis de la avalancha de conducción formulada por él y sostenida también por Monakow, según la cual, las corrientes en su tránsito de

la periferia al centro, interesan cada vez mayor número de células. También en algunos puntos de nuestras preparaciones nos ha sido posible sorprender, dentro de una ramificación, dos ó tres células grandes y en otras cuatro ó cinco pequeñas, no siendo éstas las únicas existentes, porque sabido es que la impregnación por el cromato es parcial, y además, en los preparados de Nissl se ve que hay muchas más.

Las fibras del *tractus*, formadoras de las arborizaciones descritas, son tanto terminales como colaterales. Las primeras, en el momento de formar el recodo para dirigirse al ganglio, emiten con frecuencia al nivel de un engrosamiennto, una fina colateral que sólo hemos podido seguir corto trecho, pero es muy posible que se termine un poco más adelante, de la misma manera que la fibra principal, por el gran número de fibras finas que se encuentran en la región marginal inferior, y porque su extrema delgadez aleja la idea de que se dirijan al tubérculo cuadrigémino anterior; más factible que esto último, pero menos probable que lo primero, es que se dirijan á la pequeña porción posterior del tálamo que representa en estos animales el pulvinar. Las colaterales emergen en ángulo recto de uno de los engrosamientos de la fibra, y se ramifican del mismo modo que las terminales; una misma fibra puede emitir varias colaterales, terminándose después en el núcleo como las terminales de primera intención, ó siguen su camino hasta el pulvinar ó más allá, hasta el tubérculo cuadrigémino anterior. Como se ve, aquí hay nuevos argumentos en pro de la avalancha de conducción, y la confirmación, en el gato, de un hecho observado por Pedro Ramón en los vertebrados inferiores, y después por nuestro maestro en los roedores; y éste es que unas mismas fibras son formadoras de la corriente refleja ó bigeminal, y de la central ó de la imagen mental, con la diferencia de que en los vertebrados inferiores lo son todos, en los roedores ya se ve alguna terminal y en el gato son muy pocas, porque las más ó se agotan en el cuerpo geniculado externo, ó continúan su trayecto sin emitir colaterales. He aquí una prueba más de la importancia que sucesivamente va tomando el cuerpo geniculado externo, á medida que ascendemos en la escala animal.

Las fibras destinadas á la cabeza recorren cierto trecho, desde la cinta al ganglio; este espacio va siendo cada vez menor, hasta que al nivel de la cola la cinta se pega al ganglio y ya parece como si las arborizaciones estuviesen implantadas sobre la misma cinta.

2.° **Células.** — Los métodos de Nissl y Golgi, son los que nos han servido para desentrañar el gran número de formas celulares que en este núcleo se presentan.

Si estudiamos los preparados de Nissl, quedamos sorprendidos desde luego por la gran variedad de células que aparecen, tanto por el tamaño

como por la forma, en todos los animales que han sido estudiados por nosotros. Por el volumen pueden clasificarse en el gato en tres grupos: *grandes*, cuyas dimensiones son de 30 á 45 μ de longitud y de 20 á 35 de espesor; medianas, de 17 á 30 μ de longitud por un espesor de 12 á 25 μ, y pequeñas, de 8 á 17 μ de longitud por 6 á 15 μ de anchura. En el hombre se conserva la misma variedad de tamaños celulares, pero todas y especialmente las grandes, han sufrido una disminución tal, que éstas tienen una longitud de 25 á 30 μ y un espesor de 15 á 24; en las medianas y pequeñas, la disminución no es tan grande y no bajan de las dimensiones mínimas que hemos encontrado en el gato, pero predominan las más pequeñas, dentro de las dimensiones que asignábamos á cada grupo. En el conejo sucede un hecho análogo, sólo que en mayor extensión, porque es rara la célula grande que pasa de 24 μ, siendo, por regla general, el promedio de las mayores 17 á 20 μ; respecto á los demás tamaños, ocurre una cosa análoga á lo que decimos en el hombre.

No es el tamaño la única diferencia existente entre los tres grupos, las hallamos también importantes en la forma y en la estructura. Dentro de las grandes son tres las formas predominantes, la más ó menos redondeada, la rectangular y la triangular, á modo de las pirámides cerebrales, y entre éstas, una porción de formas de transición. A veces es posible distinguir con claridad el comienzo de las expansiones que, en las redondeadas, son muchas, aunque generalmente, como sucede en la representada en la fig. 4, [1], no aparece más de una ó dos; en las rectangulares, manifiesta este método de tres (fig. 4, [2]) á cinco ó seis (fig. 4, [3]); las triangulares presentan de tres á cuatro, una de ellas saliendo del vértice y resaltando sobre las otras. En las medianas abunda de un modo notable la fusiforme, encontrándose alguna redondeada y tal cual célula poliédrica. Entre las pequeñas no se encuentra una forma tan predominante, pero se puede observar que las mayores son más frecuentemente fusiformes, constituyendo una especie de transición á las medianas, en tanto que las más pequeñas suelen ser redondeadas; en la fig. 4, [5] y [6], están representadas dos células de estos tipos, redondeado y fusiforme, que pudieran confundirse con uno de los innumerables núcleos de las células de neuroglia (figura 4, [7]) que se hallan en estas preparaciones, á no ser por la pequeña capa de protoplasma que rodea al núcleo.

Todo cuanto llevamos dicho sobre células se refiere al gato y perro, porque en el hombre y en el conejo, si bien los tipos mediano y pequeño concuerdan con lo dicho, en el tipo grande del hombre la forma dominante es la triangular y la poliédrica en el conejo.

También en la estructura obsérvanse diferencias entre los tamaños celulares. Desde luego apercibimos con un pequeño aumento, que las célu-

las grandes han tomado la tionina con mucha más intensidad que las medianas y éstas que las pequeñas, y como es indudable que las diferencias de teñido de las células no son explicables sino por diferencias de afinidad y éstas por diferenciaciones químicas que llevan consigo las correspondientes estructurales, por este sólo hecho venimos en conocimiento de que debe existir una diferente estructura en unas y en otras. Esta deducción lógica queda confirmada, si aplicamos á la observación los objetivos de inmersión homogénea; entonces se ve que el protoplasma va disminuyendo desde las grandes á las chicas, de tal modo que, como hemos dicho,

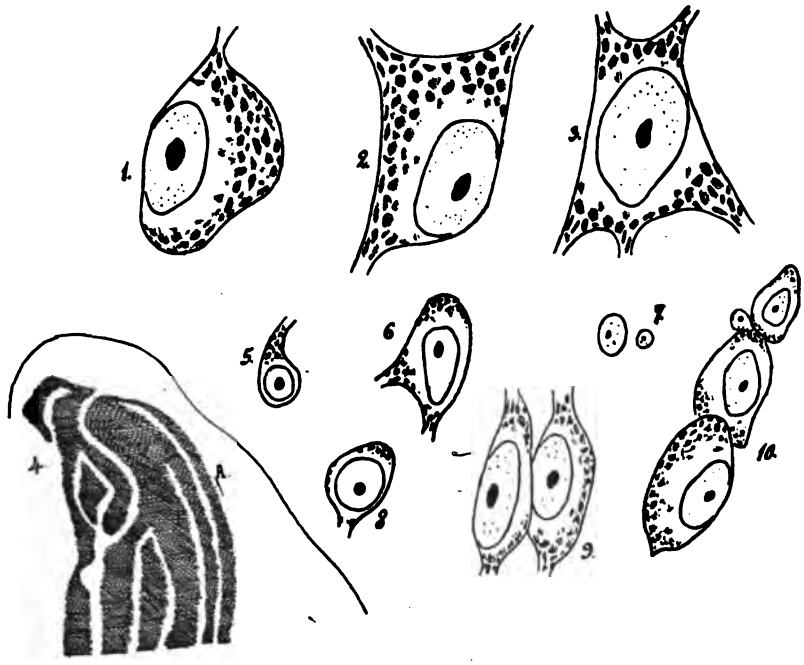


Fig. 4.—4, corte anteroposterior del cuerpo geniculado humano ; A, capa de células grandes ; 1, 2, 3, células grandes del gato ; 6, células medianas ; 5 y 8, células pequeñas ; 7, núcleos de neuroglia ; 9, células redondas lateralmente ; 10, células dispuestas en pilas.

en las más pequeñas de éstas queda reducido á una estrecha capa que rodea al núcleo, siendo en ocasiones necesario observar con gran atención para discernirlas; una cosa análoga sucede con los husos cromáticos, que en las células grandes son abundantes y dispuestos periféricamente, en las medianas pocos, y acumulados en el origen de las expansiones, aunque se observan todavía marginalmente en el resto de la célula, y por último, las más pequeñas sólo poseen alguno que otro en el origen de las expansiones y la mayor parte carecen por completo de ellos.

Si estudiamos, siempre con el método de Nissl, la distribución de las células dentro del ganglio, obsérvase en el gato un aspecto sumamente característico; se disponen en cada piso unas encima de otras, formando á modo de columnas, que siguen en su orientación á la que tienen las arborizaciones, es decir, como los radios de las curvaturas que presenta el núcleo; entre unas columnas y otras hay células que hacen que éstas no estén claramente separadas, y como sucede en las arborizaciones, esta disposición radiada depende de la acumulación en determinados puntos de las células y de las arborizaciones, con el objeto de enlazar la corriente periférica con la central.

En cuanto á la distribución de cada tipo de células en particular, son de notar también algunos hechos curiosos: las grandes están distribuídas por todo el núcleo, pero obsérvase que las de mayores dimensiones se encuentran en la parte más baja de cada piso, y sobre todo al nivel de las láminas medulares, donde se ve, de trecho en trecho, una célula grande sumamente teñida, y generalmente de forma redondeada; son menos abundantes y algo más pequeñas en la cola que en la cabeza; en ésta hay una región circular que comprende la extremidad anterior de los dos pisos inferiores en que son muy aparentes, tanto por su abundancia y tamaño, cuanto por la escasez de las células de los otros tipos. Las medianas y pequeñas están distribuídas por igual en la totalidad del ganglio, y entre ellas, las fusiformes, que predominan, están orientadas casi siempre con el eje en la dirección radiada antedicha; su número aumenta en la parte media del núcleo, ó sea en la unión de cabeza y cola y en la parte inferior; por debajo de esta región precisamente y encima del *tractus opticus*, aparece una zona compuesta exclusivamente por esta clase de células en sus partes media y posterior, y con células muy grandes en la anterior. Esta porción debe corresponder á aquel núcleo accesorio que describíamos al hablar de la disposición macroscópica; de este hecho no tenemos una demostración evidente, pero hay razones que nos inducen á suponerlo así, á saber: 1.°, el sitio donde se encuentra (debajo de la parte media y encima del *tractus*); 2.°, la observación nuestra, de que este núcleo accesorio no se separa del principal sino en la parte externa, siendo continuos en su parte interna, y tanto más cuanto más anteriores son los cortes; 3.°, si examinamos la disposición de las células en los cortes frontales del núcleo accesorio, observamos que está constituído sólo de células medianas y pequeñas en los cortes posteriores y medios y en los anteriores se ven células de las mayores; 4.°, en los preparados de Golgi hemos visto alguna que otra célula en esta región; y 5.°, á este lugar se dirige una vía de colaterales que determina el núcleo accesorio.

En el hombre, por regla general, y dentro de la irregularidad que pre-

senta en la formación de los pisos, la distribución es análoga á la descrita en el gato. No obstante, por lo que respecta á cada tipo celular, nos encontramos con que las grandes son las más numerosas, casi únicas, en la capa posterior de los cortes antero-posteriores ó en la más externa de los frontales (fig. 4, [4]); esta capa es la que con más claridad se encuentra separada, y está constituída, según la región, de una á tres células, rara vez más, grandes, de forma triangular, análogas á las pirámides, que ofrecen con mucha limpieza el origen y alguna parte del trayecto de las expansiones, entre las cuales hay siempre alguna que se dirige hacia las capas próximas; por el contrario, en los pisos superiores son poco abundantes y generalmente de las más pequeñas de su tipo. Las medianas y pequeñas, distribuídas por el núcleo con cierta igualdad, se acumulan en las capas superiores que son las más espesas. Es de advertir que, así como en el gato, se sorprenden las células grandes en la parte más baja de cada piso, es decir, en la proximidad de la entrada de las fibras ópticas, en el hombre, se conserva esta disposición exagerándose, porque la capa de células grandes es la que está más próxima á la entrada de las fibras del *tractus opticus*.

En los roedores se disponen las eélulas irregularmente, pero siempre conservando su orientación en la dirección de las corrientes.

Completando el estudio de las células con el método de Golgi (procedimiento de doble y triple impregnación, según aconseja nuestro maestro), podemos clasificar estos elementos, atendiendo á la morfología de las expansiones tanto protoplasmáticas como nerviosas. Al primer golpe de vista apréciase la coexistencia en el núcleo de los dos tipos celulares de Golgi, ó células de cilindro eje largo y corto de Cajal.

Células de cilindro-eje largo.—Estas ofrecen una morfologia diferente, según que se las considere en la masa del núcleo ó en las zonas marginales, sobre todo en la margen inferior, que está en contacto con la cinta óptica. Las de la región profunda corresponden á los tres tipos descritos al hablar del método de Nissl. Entre las de grandes dimensiones, la más abundante es la redondeada con numerosas expansiones, á veces 15 y más (fig. 5, [2]), provistas de espinas cortas y gruesas, y divididas repetidas veces en dos, tres ó más ramas, llegando á constituir todas juntas una ramificación redondeada y bastante espesa; estos elementos son parecidos á las células de axon largo halladas por nuestro maestro en el cuerpo geniculado interno. Unas células análogas á éstas fueron descritas por Kölliker, en su obra de Histología ya citada, con el nombre de *Buschzellen*, si bien, como puede verse en su fig. 675, son de ramificación más corta y exentas de espinas. Dentro de estas mismas células las hay de cuerpo rectangular con 3 ú 8 expansiones (fig. 5, [1]) y piriformes, saliendo numero-

sas expansiones de la parte gruesa, y una que se ramifica en forma de pincel de la delgada; por último, las más pequeñas de este tipo y alguna grande adoptan la disposición en huso, con dos expansiones sumamente ramificadas en los extremos y alguna que parte del cuerpo lateralmente. El cilindro-eje de todas estas células es largo y parte, ya del cuerpo celular, ya del arranque de una expansión protoplasmática.

En las de tamaño mediano distínguense también varias formas; las más numerosas son fusiformes, con su eje mayor perpendicular á la cinta óp-

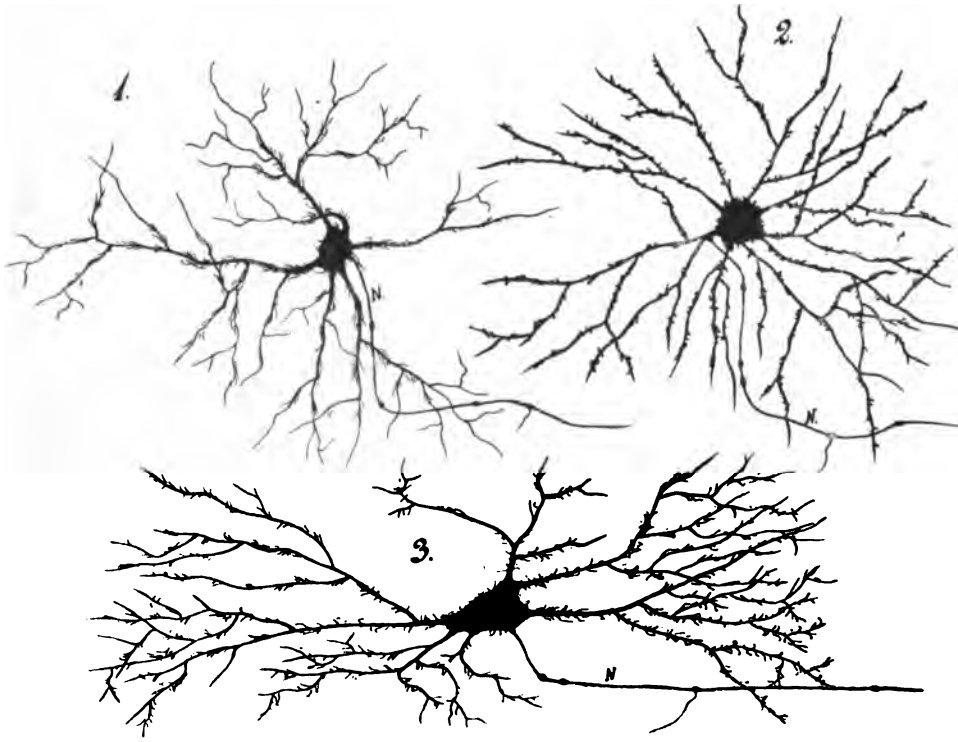


Fig. 5.—1 y 2, células grandes intranucleares; 3, célula grande marginal; N, axon.

tica, como habíamos observado con el método de Nissl; sus expansiones parten de los extremos, dividiéndose después hasta engendrar una ramificación también alargada; están provistas de alguna espina, pero en menor número y menos visibles que en las grandes; con frecuencia adviértese como si el cuerpo celular se alargara notablemente, con el mismo espesor, prolongándose por el tronco común de la ramificación (fig. 6, [3]). Otras células medianas tienen la misma forma que las grandes, redondeadas con numerosas expansiones, y se presentan en algunas partes de nues-

tras preparaciones al lado de aquéllas con un volumen de la mitad á la cuarta parte. A veces el cuerpo es más bien poliédrico y las expansiones menos numerosas, 3 á 6, correspondiendo á las células de cilindro-eje largo descritas por nuestro maestro en el conejo (fig. 6, [4]). Entre las pequeñas siguen dominando las fusiformes con las ramificaciones polarizadas. El axon, como en las grandes, en todas es largo y parte del cuerpo ó las dendritas.

Las células de la zona marginal ofrecen algunas variaciones en los diferentes tipos; estas diferencias se localizan, sobre todo, en la margen

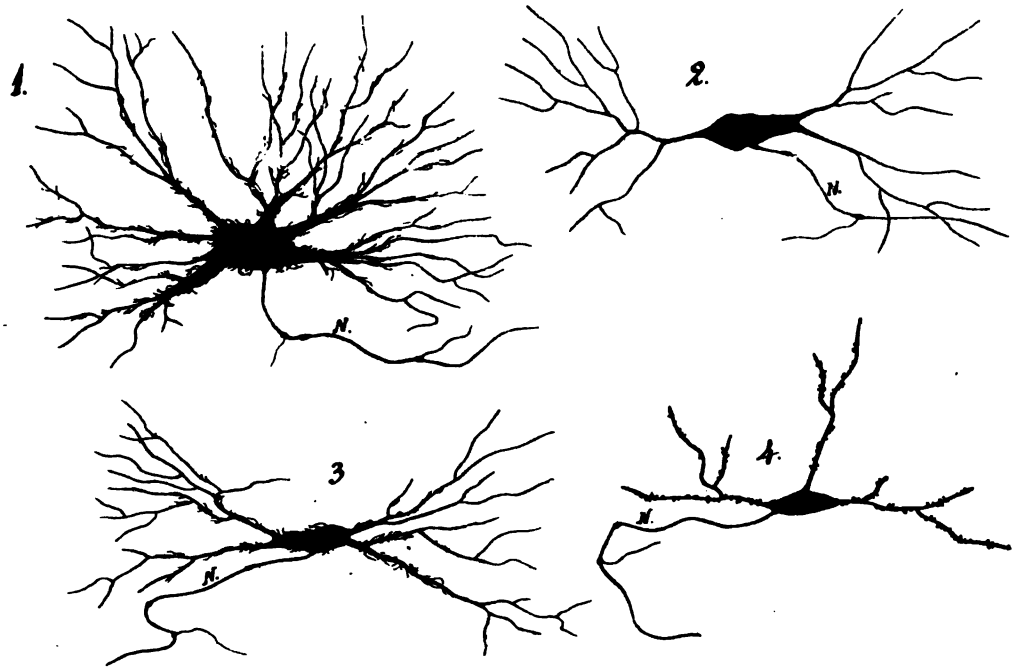


Fig. 6.—1 y 2, células marginales; 3 y 4, células medianas intranucleares.

inferior, lindante con la cinta óptica, que dispone de las células mayores, como hemos hecho notar al describir los preparados por la tionina, tanto en las formas redondeadas, como en las formas peculiares á esta región. De éstas, las más grandes de todas, son unas células rectangulares, que emiten de seis á ocho expansiones gruesas y cortas, divididas varias veces hasta formar en conjunto una ramificación espesa, en que las ramas más largas no tienen más de cuatro veces la longitud del cuerpo (fig. 6, [1]); otras afectan una forma más alargada en el cuerpo, como tendiendo á fusiformes, con cuatro ó cinco ramas gruesas, que se dividen más que las

anteriores, constituyendo una ramificación más espesa y más estrecha, y próxima á la polarización (fig. 5, [3]) : estas células encuéntranse en ocasiones dentro de la cinta óptica, extendiendo sus ramas por entre las fibras ópticas, y tienen algún parecido con las *Strahlenzellen* descritas por Kölliker en el cuerpo geniculado externo y otros núcleos talámicos. Por último, otro grupo está caracterizado por un cuerpo alargado y estrecho con 2 ó 4 expansiones muy finas y poco divididas; unas veces se orientan como todas las marginales paralelas al borde del núcleo, y otras se presentan perpendiculares á esta línea ; pero lo más característico de ellas es la ausencia de espinas en las expansiones, lo que las diferencia de todas las demás (fig. 6, [2]). Por último, encuéntrase alguna que otra célula como término de transición entre éstas y las más abundantes del núcleo.

En las células medianas marginales obsérvanse dos clases : unas, las más numerosas, siguen siendo fusiformes, pero disponen sus expansiones paralelas á la línea del margen, en tanto que otras, conservando la forma multipolar, orientan sus expansiones hacia la parte profunda del ganglio, como las plantas que crecen arrimadas á una pared (fig. 7, [4]). Las mismas dos formas se presentan entre las pequeñas, pero son menos frecuentes. El axon de estas células marginales ofrece un grosor proporcional al tamaño celular, y se dirige, unas veces directamente á formar la vía óptica central, y otras (células grandes), se mezcla con las fibras del tractus.

Para Kölliker, los cilindros-ejes de estas células marginales, destinados á mezclarse con las fibras ópticas, serían los formadores de la corriente centrífuga que va del cuerpo geniculado externo á la retina, fundando su suposición ; en el tamaño de las células, en el grosor y varicosidades del cilindro-eje, que hacen pensar en un largo recorrido; en la situación profunda que ocupan estas células con relación al *tractus*, y por último, en que el no estar en contacto con fibras centrípetas ópticas, parece indicar que se trata de fibras centrífugas y no centrípetas. Nuestras investigaciones no nos permiten confirmar ni negar esta suposición, pero encontramos que no son incontestables los argumentos en que basa Kölliker su apreciación ; el tamaño de las células y el cilindro-eje, indicando un largo recorrido, no quieren decir que éste haya de ser necesariamente hacia la retina ; tampoco encuentro nada positivo en la situación y conexiones, porque en este sitio hállanse gran cantidad de colaterales finas de las fibras ópticas, y alguna que otra gruesa ; además, en las pocas ocasiones en que hemos podido seguir el axon algún trecho, nos ha parecido seguir el camino mismo de la corriente óptica y en el mismo sentido; por último, siendo los orígenes de la corriente centrífuga, debieran en-

[illegible]

contrarse en relación con la terminación de las fibras cortico-geniculadas, y ya veremos más adelante que éstas se terminan en el interior del ganglio y no podemos seguirlas hasta estas células, lo cual indica que, aunque fuera cierta la suposición de Kölliker, no serían las únicas, ni siquiera las más numerosas. Nosotros, por el contrario, opinamos que estas fibras, después de un recorrido más ó menos largo por la cinta, contornean la cabeza del núcleo y penetran en la vía óptica central, formando parte de un grueso haz de fibras que siguen este camino, procedentes unas de éstas células y otras de las propias de la cabeza del ganglio.

Las relaciones que guardan entre sí las células de los diferentes tamaños dentro del núcleo, no se ajustan á una ley fija, sino que están distribuídas irregularmente; hemos podido ver reunidas en una misma arborización dos ó tres células grandes con cuatro ó cinco pequeñas y medianas; más notable es el modo de reunirse las medianas y pequeñas, como puede verse en preparaciones de Nissl, encontrándose unas veces adosadas por sus caras laterales (fig. 4, [9]), y otras formando á modo de pilas de tres ó más unidas por sus polos (fig. 4, [10]), siendo de notar el hecho de que en este caso van disminuyendo de tamaño á medida que se alejan de la parte inferior de cada piso.

En estos mismos preparados puede verse que, por el mayor número de células medianas y pequeñas, en relación con las grandes, es lo más frecuente que, en torno de una de éstas, muchas veces adosadas á ellas, se encuentren seis ó siete de aquellas.

Fibras eferentes.—Los axones de todas las células de cilindro-eje largo, prescindiendo de las subópticas, se reunen para formar la vía óptica central. Realmente, por nuestras preparaciones del gato no podríamos afirmar este hecho, porque es tan grande el número de revueltas que dan en su comienzo, que por próxima que esté la célula á esta vía, es imposible seguirlos en todo su trayecto; pero dicho paradero había sido ya establecido por la anatomía patológica en manos de Monakow y otros autores, y recibió la confirmación histológica por nuestro maestro, que pudo ver esta continuidad en el ratón de pocos días. Esto, unido á la demostración por la anatomía patológica de que no hay fibras que vayan directamente desde la retina al cerebro, nos ha permitido reconocer muchos de tales conductores centrales en nuestras preparaciones.

Como afirma Cajal, tales fibras emiten colaterales y con frecuencia dan origen á más de dos, algunas de las cuales siguen un camino recurrente para ingresar en el plexo formado por arborizaciones de origen retiniano; no es raro ver que semejantes ramas proceden de la proximidad de la entrada del axon en la vía óptica central. Una vez llegadas á ésta, la mayor parte se incurvan penetrando en la vía, pero á veces al

verificar esto generan una colateral que se dirige en opuesto sentido.

La *vía óptica central* aparece colocada en la parte superior interna del núcleo, contribuyendo á limitarle por delante, arriba y adentro, como la cinta óptica lo hace por detrás, abajo y afuera. Se encuentra formada en los cortes anteroposteriores por grupos de fibras seccionadas oblícuamente, y de éstos los más próximos al núcleo dividen las ramificaciones del piso más alto. En cortes oblícuos hemos sorprendido la vía en su longitud, pudiendo estudiar los detalles dichos. Una vez reunidos estos haces, se dirigen hacia adentro y adelante, penetrando en el tálamo y marchando después por la cápsula interna á la corteza occipital. En el ratón, nuestro maestro las ha visto condensarse en una robusta vía que se coloca por encima del pedúnculo cerebral, formando después la radiación óptica de Gratiolet ó vía óptica central. En el hombre atraviesan la zona de Wernike y la zona reticulada del pulvinar, salen del tálamo después de cruzarle de arriba á abajo, de fuera á adentro, de atrás á adelante, penetran en el segmento retrolenticular de Dejérine, siguen las radiaciones ópticas, terminándose en el lóbulo occipital, en todo él según unos, en el *cuneus*, lóbulo lingual y cisura calcarina, según Dejérine, y solamente en la cisura calcarina según Henschen. Esta radiación ha recibido, según es sabido, los nombres de *vía óptica central, radiación de Gratiolet* y *pedúnculo posterior de las radiaciones contratalámicas.*

Células de cilindro-eje corto. — Dentro de esta categoría reconócense dos formas principales: unas vistas por nuestro maestro en la cabeza del ganglio del gato y del perro, representan los elementos más diminutos del ganglio, siendo á veces difícil separarlos en el método de Nissl de los núcleos de neuroglia; cosa análoga ocurre en los preparados de Golgi, donde por su pequeñez y por la forma de su ramificación recuerdan ambas las células en araña; solamente al hallazgo del cilindro-eje pudo decidir que se trataba de células nerviosas. Cajal las describe diciendo que «afectan formas irregulares y variadísimas; sus dendritas descompónense también como las de los corpúsculos homólogos del cuerpo geniculado interno, en penachos filamentosos y espinosos de curso y aspecto muy complicados. En cuanto al axon, que es fino, se resuelve á no mucha distancia en una arborización terminal laxa poco extensa» (fig. 7, [3]).

Además de éstas, hemos podido ver en algunos puntos de nuestras preparaciones, otras que pertenecen á un tamaño intermedio entre las pequeñas y las medianas, provistas de cuerpo piriforme ó fusiforme; las primeras con una expansión protoplasmática, las segundas con dos ó más, pero unas y otras largas; en todas ellas brota el axon bien del cuerpo ó de una expansión y se resuelve en una ramificación también laxa, pero extensa (fig. 7, [1] y [2]).

En cuanto á su función, está rodeada de grande obscuridad. Por lo demás, teóricamente, ya Monakow había llegado á suponer su existencia, dándoles el nombre de *elementos intercalares*. En los esquemas de este sabio figuran, tanto en el cuerpo geniculado externo, como en el tubérlo cuadrigémino anterior y corteza cerebral, interponiéndose entre las fibras centrípetas y las células de axon largo. Pero ni Kölliker ni Cajal admiten esta posición intermediaria de los corpúsculos de axon corto en ningún centro nervioso. Nuestras observaciones no favorecen tampoco la conjetura de Monakow, que sólo aparecería probable si la arborización

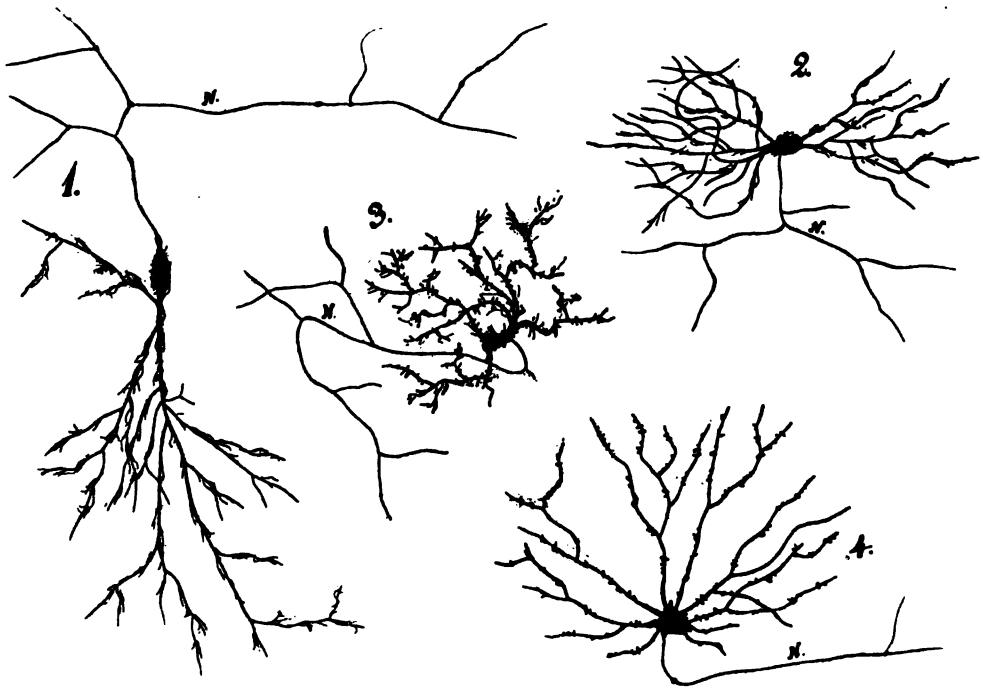


Fig. 7. — 1, 2 y 3, células de cilindro-eje corto ; 4, célula mediana marginal.

nerviosa terminal de las fibras ópticas retinianas se concretara á formar nidos á los pequeños elementos; pero no sucede así, puesto que cada arborización abarca una gran área habitada por ambos tipos celulares, y, además, la mayoría de los nidos nerviosos corresponden precisamente á células voluminosas. Por otra parte, semejantes diminutos elementos han aparecido solamente, según hace notar Cajal, en los animales superiores (en el ratón y conejo deben ser rarísimos), y sería muy extraño, en vista de esto, que desempeñara una función tan esencial á la conducción de los impulsos, como la de servir de anillo intercalar en una cadena neuronal

aferente. Mucho más probable resulta el dictamen de mi maestro, que las estima como una disposición de perfeccionamiento, acaso como condensadores de la energía destinados á robustecer la transmisión.

Fibras cortico-geniculadas.—Su existencia había sido demostrada por la anatomía patológica en manos de Monakow (1). Henschen y otros, que habían visto degenerar el cuerpo geniculado externo á consecuencia de la destrucción de la cisura calcarina; lo que llevó á Monakow á decir que en todo lugar de las vías ópticas había dos clases de conductores, centrífugos y centrípetos. A la misma afirmación habíase llegado por la destrucción experimental de la corteza occipital de los monos llevada á cabo por Edinger (2), Ferrier y Turner (3). Por otra parte, el hallazgo de estas fibras centrífugas en la retina, lóbulo óptico de las aves, tubérculo cuadrigémino anterior de los mamíferos, diferentes ganglios talámicos, etc., habían hecho desaparecer aquel dualismo establecido en el sistema nervioso entre corrientes centrípetas ó sensitivo-sensoriales y centrífugas ó motoras, permitiendo llegar á nuestro maestro á la doctrina de que la existencia de las fibras cortico talámicas es una ley anatómica que se cumple en todos los focos sensoriales del cerebro medio y entrecerebro. En vista de aquellos hechos y de esta disposición general, hemos tratado de sorprender las fibras cortico-geniculadas por procedimientos histológicos, que son los que más satisfacen al espíritu, y, en efecto, recorriendo nuestras preparaciones por el método de Golgi, pudimos ver que por la región de la vía central y siguiendo este mismo camino, penetraban conductores sumamente gruesos que, después de cierto trecho, se incurvaban, dirigiéndose al núcleo, donde se dividían repetidas veces, contribuyendo á dar complejidad á las arborizaciones de las fibras centrípetas. Desde el momento en que se doblan, hácese muy tortuoso su camino, de modo que podríamos seguirlas por las numerosas de esta región, sin su grosor, que las hace resaltar notablemente; en el recodo suelen emitir una colateral que continúa el mismo camino todavía y que suponemos, aunque no lo hemos podido ver, que seguirá la misma suerte que el tronco; otras veces parece como que se divide en rama que se dirige al núcleo directamente y otra en opuesto sentido, pero esta es corta y hace numerosas inflexiones, partiéndose después de un camino corto en dos ó tres ramas, que se dirigen dando muchas revueltas al ganglio, donde se terminan como el tronco, por arborizaciones libres, en contacto

(1) *Monakow*: *Arch. f. Psych.* Bd. XXI y Gehirnpathologie, 1897, pág. 431 y siguientes.

(2) *Edinger*: Lecciones sobre la estructura del sistema nervioso central. Leipzig, 1896.

(3) *Ferrier Turner*: *Philosophic. Transac.*, 1898. Vol. XC.

con las dendritas y el soma de las células. La primera división suelen hacerla en la frontera, divergiendo después y dirigiéndose á dos ó más arborizaciones separadas entre sí por otras tres ó cuatro, al mismo tiempo que por divisiones más próximas y de mas corto recorrido, forma parte de las intermedias.

La significación fisiológica de estas fibras es completamente desconocida; pero lógicamente pensando, parece que han de tener por objeto reglar la corriente aferente, circunscribiendo el área de la atención.

Láminas medulares.—Hemos dicho que éstas son dos: una superior que recorre todo el ganglio, y otra inferior que sólo se presenta en la cabeza y parte media; la primera es la más clara, se ve á simple vista ó con una lente en todos los cortes; la segunda necesita un aumento mayor, porque es más confusa. En el hombre son más, pero también más irregularmente colocadas, de modo que no se puede establecer una individuación de ellas; la única que aparece constantemente es la externa posterior que separa la capa de las células grandes de las demás. Su estructura nos es desconocida, y sólo el carácter negativo de no teñirse por ninguno de los procedimientos empleados, nos hace presumir que están formadas por neuroglia.

Para terminar, creemos conveniente concretar en unas cuantas conclusiones los resultados más salientes de nuestros trabajos.

1.ª Los dos núcleos descritos hasta ahora en el cuerpo geniculado externo, son uno solo continuo é incurvado en forma de coma, cuya parte más ancha ó cabeza es anterior, inferior é interna, y cuya parte más estrecha ó cola es posterior, superior y externa. El borde posterior, muy saliente, del ganglio corresponde á su porción convexa.

2.ª La cinta óptica engendra en su distribución cuatro vías: la *accesoria* ó de colaterales para el núcleo pedicular ó ventral propiamente dicho; la *externa* ó superficial, consagrada á la cola ó región superior del centro principal; la *profunda*, quizás la más gruesa de todas, destinada á la cabeza de este toco, en el que penetra por abajo y detrás, prolongándose en sentido sagital hasta el límite anterior; y, en fin, la *bigeminal*, que está formada por dos corrientes de fibras, una que acompaña á la externa hasta el límite superior del núcleo, y otra que unida breve trecho á la profunda, sigue después la cara interna de la porción caudal, hasta el límite superior también, desde donde unidas ambas se dirigen hacia atrás y adentro por el *brachium conjutivum* al tubérculo cuadrigémino anterior después de haber dado algunas fibras para el pulvinar, que está poco desarrollado.

3.ª El ganglio está recorrido por tres pisos de arborizaciones ópticas, separados por dos líneas ó fronteras de substancia fibrilar. Estos pisos se

van adelgazando de la cabeza á la cola ó parte superior, que no presenta más que dos, y en ellos hállanse bien separadas y deslindadas las ramificaciones de las fibras visuales que penetran por la parte externa y posterior.

4.ª Cada arborización comprende varias células de axon largo, grandes y medianas, y algunas de axon corto. En las grandes predomina la forma multipolar, extendiendo sus prolongaciones en todos los sentidos, y en las medianas las fusiformes, teniendo el cuerpo, como las dendritas, orientado en dirección perpendicular á las fronteras fibrilares y á los bordes del ganglio.

5.ª Penetran igualmente en éste arborizaciones de fibras profundas llegadas del tálamo y probablemente continuadas con los conductores cerebro-visuales de Monakow.

6.ª En plano más ventral que el cuerpo geniculado externo, y encima de la cinta óptica, existe un ganglio prolongado, de sección triangular, especie de pedículo de aquel núcleo, y corresponde, según nuestras observaciones, al ganglio ventral geniculado externo del ratón y conejo, etc. En él se arborizan ramas colaterales, al revés de lo que ocurre en el ganglio principal, donde se extienden arborizaciones terminales.

7.ª La corriente óptica se dirige directamente desde la arborización terminal de las fibras del tractus á las dendritas y cuerpo de las células de axon largo, siendo conducida después por el axon de estas células hasta la corteza occipital, sin el intermedio de las células de asociación de Monakow.

Para terminar, debemos consignar que el presente trabajo ha sido dirigido por nuestro maestro Cajal, el cual, no sólo nos ha guiado en la aplicación de los métodos, sino que ha tenido la amabilidad de examinar nuestras preparaciones, y solventar no pocas dudas que nos asaltaron al hacer la interpretación. Por todo ello le damos las más cordiales gracias.

ASOCIACIÓN

DEL

MÉTODO DEL NITRATO DE PLATA CON EL EMBRIONARIO

PARA EL ESTUDIO DE LOS FOCOS MOTORES Y SENSITIVOS

POR

S. R. CAJAL

En diferentes comunicaciones (1) recientes hemos aludido á la capacidad que la nueva reacción argéntica posee (fórmula con fijación en alcohol puro ó amoniacal) de impregnar las células nerviosas jóvenes y axones llegados á madurez, dejando de teñir ó impregnando muy débilmente los elementos retrasados en su evolución. Esta singular propiedad, que presta al citado proceder el carácter de un método embrionario (á la manera del de la medulación progresiva de Flechsig, en combinación con el teñido por la laca hematoxílica), ha sido recientemente objeto por nuestra parte de atento análisis, con la mira de fijar las condiciones bajo las cuales la susodicha reacción puede ser ventajosa para el estudio del origen y curso de los nervios motores y sensitivos.

Nuestras observaciones nos han conducido á demostrar que en los pequeños mamíferos (gato, conejo, ratón, etc.), durante los últimos tiempos de la vida fetal, y en los días que siguen al nacimiento, solamente se colorea intensamente el retículo protoplásmico y axones de las neuronas motrices y sensitivas de la médula y bulbo.

Las neuronas asociativas de estos centros se tiñen en períodos ulteriores, excepción hecha de los elementos funiculares gigantes, cuya diferenciación neurofibrilar sigue muy de cerca á la de los motores y sensitivos. Merced á semejante prelación en la selección argéntica, las neuronas motrices de la médula, bulbo, cerebro medio, etc., de los fetos y anima-

(1) *S. R. Cajal.* Algunos métodos de coloración de los cilindros ejes, neurofibrillas, etc. *Trab. del Lab. de Inves. biol.*, fasc. I. Marzo 1904.

— Un método de coloración de los cilindros ejes de las células nerviosas. *Revista de la Real Acad. de Ciencias*, etc. Tomo I, núm. 1. Abril 1904.

les recién nacidos, destacan bien del resto de la substancia gris no llegada todavía á sazón, resultando cómoda y llana empresa determinar la topografía de los focos motores, así como el origen y curso de los axones centrífugos.

Leyes que rigen la prelación de la impregnación del retículo.—Recientes estudios, todavía no terminados, en el embrión del pollo, nos permiten afirmar que la aparición de la fase impregnativa del retículo de los corpúsculos motores y sensitivos de la médula espinal y bulbo es bastante precoz. Dichas neuronas atraen ya, aunque débilmente, el depósito metálico desde el décimo día de la incubación, haciéndose mucho más numerosas y coloreables durante el décimo-primero, décimo-segundo y décimo-tercero.

De intento empleamos la expresión *aparición de la fase impregnativa* y no *formación del retículo*, porque no habiendo modo de colorear el protoplasma celular en sus más tempranas fases, ignoramos si el armazón de neurofibrillas se modela en red durante el comienzo del período de impregnación, ó si, preexistiendo en tal forma, experimenta solamente algún cambio químico merced al cual las neurofibrillas producen con la plata combinaciones fácilmente reductibles. Tampoco nuestra frase «*fase de madurez*» ha de entenderse como estado de organización contemporánea ó inmediatamente precedente al período de actividad funcional, sino como el estado durante el cual la substancia argentófila alcanza notable desarrollo y la disposición reticular aparece evidente.

Hechas estas salvedades, necesarias para evitar toda confusión de ideas, expongamos las leyes que parecen regir la aparición de la citada fase de colorabilidad :

1.ª En la médula espinal, bulbo, cerebro medio, cerebro anterior, etc., las neuronas cuyo retículo se colorea primeramente son las motrices, ocurriendo esta selección bastante tiempo después de formarse las dendritas, aunque mucho antes del crecimiento y modelamiento definitivo de las divisiones secundarias y terciarias de éstas. Por ejemplo : en la médula espinal, los corpúsculos motores se impregnan cuando todavía poseen un soma pobre en protoplasma y algunas dendritas muy cortas y sencillas; en el cerebelo del pollo de once y doce días de la incubación los corpúsculos de Purkinje, todavía fusiformes y desprovistos del elegante penacho periférico, atraen ya la plata, y lo mismo ocurre con los elementos homónimos del perro, gato y conejo recién nacidos.

2.ª Las neurofibrillas del axon, dispuestas, como se sabe, en haz apretado, atraen más enérgicamente la plata que el cuerpo celular y las expansiones protoplásmicas, presentándose coloreadas bastante antes de aparecer la vaina medular. Por esta razón es común percibir en la médula y

bulbo vías nerviosas moderadamente impregnadas, cuyas células de origen exhiben un retículo sumamente pálido, tan pálido á veces que se substrae á un examen atento.

3.ª Los axones medulados, de cualquier género que sean, muéstranse en las buenas preparaciones mucho más enérgicamente coloreados (tono café obscuro y hasta negro) que los desprovistos de mielina. Cosa análoga ocurre, aunque no tan manifiestamente, en las células de origen. En otros términos: las neuronas provistas de axon mielínico exhiben un retículo más fuertemente impregnado que las demás.

4.ª En un mismo foco motor la aparición de la fase de madurez suele ser simultánea para todas las neuronas; sin embargo, en ocasiones, una ó varias pléyades del núcleo, verosímilmente pertenecientes á grupos de músculos de actividad relativamente tardía, se colorean con menos intensidad. Tal hemos visto en los *núcleos del hipogloso, dorsal del vago,* etcétera.

5.ª Igual fenómeno se hace notar en los corpúsculos de los focos sensitivos del pollo, en donde, á partir del día noveno de incubación (en que la reacción es suficiente para distinguir bien el retículo), adviértese que algunos elementos, generalmente los más voluminosos, toman la delantera á los demás. En cambio, en los corpúsculos bipolares del coclear del embrión del pollo hemos observado siempre contemporaneidad de reacción.

6.ª Las estrangulaciones y punto de arranque de los axones medulados en las neuronas, tíñense bien en los corpúsculos en fase de madurez; esto permite establecer fácilmente el origen de los tubos nerviosos. Al nivel de la primera estrangulación, se observa á veces cierta palidez del teñido, pero ésta nunca es tan acentuada que no quepa establecer cómodamente la continuidad de la porción medulada con la amedulada.

7.ª La fase de madurez del retículo de las neuronas sensitivas es contemporánea, ó casi contemporánea, de la de los elementos motores. La colorabilidad se inicia ya muy temprano en los embriones de pollo, durante la fase de bipolaridad, para acentuarse después en la fase monopolar. Hay, sin embargo, células llegadas al estadio monopolar, cuyas neurofibrillas no atraen ó atraen débilmente el nitrato argéntico. Tampoco en los ganglios raquídeos de los mamíferos recién nacidos (perro, gato, conejo, etc.) suelen faltar neuronas inmaturas monopolares.

8.ª El retículo de las neuronas simpáticas coloréase muy tardíamente. En los embriones de pollo del decimo-séptimo día de incubación, la mayoría de los ganglios simpáticos no ofrecen aún células de retículo perceptible. En ellos se observan tan sólo los axones motores arribados de la médula (fibras motrices simpáticas de primer orden), puesto que los de Remak carecen todavía de afinidad por la plata.

9.ª Las células de asociación de la médula y bulbo (funiculares, intersticiales de la substancia reticular blanca y gris de la protuberancia y bulbo, etc.), se muestran coloreadas bastante después que los corpúsculos motores y sensitivos, circunstancia, favorable, según dejamos consignado ya, para el estudio de los nervios centrífugos. Mas con objeto de evitar errores, es preciso distinguir tres especies de elementos asociativos: *a*) células gigantes tan grandes ó más que las neuronas motrices; *b*) células medianas mucho más numerosas; y *c*) células diminutas intercaladas á las anteriores ó congregadas en focos especiales (*substancia de Rolando, foco sensitivo* del trigémino, del pneumogástrico, etc.).

Ahora bien, las *células gigantes* ó de la primera categoría son también muy precoces, desarrollándose inmediatamente después que las motrices, y en algún caso contemporáneamente. Por ejemplo: en la médula del pollo del décimo ó undécimo días de incubación, hemos encontrado ya en el asta anterior algún corpúsculo comisural gigante y uno ó dos de la misma categoría en la base del asta posterior y proximidad de la comisura dorsal. En el conejo y gato recién nacidos son todos ellos visibles, y sus robustos axones constituyen importantes vías longitudinales de la médula y bulbo. Merced á esta prelación evolutiva y á su fácil coloración, las células asociativas grandes se estudian fácilmente, sobre todo en las regiones exentas de neuronas y axones motores.

En cuanto á las neuronas comisurales, funiculares é intersticiales medianas, atraen la plata bastante después que las gigantes, apareciendo bien teñidas en el embrión del pollo desde el duodécimo día de la incubación, y en los mamíferos (ratón, rata, perro, conejo, gato, etc.) desde el tercero ó cuarto día del nacimiento, aumentando ulteriormente en número hasta la tercera semana en que se ultima su diferenciación. Por esta época las fibras nerviosas procedentes de los corpúsculos medianos y gigantes, se muestran ya tan abundantes que el análisis morfológico de la substancia gris resulta penoso. De ordinario, la coloración de los axones precede á la de las células, como se advierte muy bien en el embrión de pollo, en donde la comisura anterior y los cordones de la substancia blanca se indican ya mucho antes de que el retículo de las neuronas de que proceden haya adquirido afinidad suficiente por la plata.

En fin, las pequeñas células funiculares y asociativas, así como los elementos de Golgi (células de axon corto) no acostumbran á colorearse por el nitrato de plata (segunda fórmula con fijación alcohólica). Sus dendritas y axones no estorban, pues, el examen de la morfología de las demás neuronas.

10. Las colaterales y arborizaciones terminales de las fibras sensitivas, así como las emanadas del curso de las vías cordonales ó funiculares, se

colorean tardíamente, es decir, en la época en que resalta la vaina medular. Aun en el adulto, las colaterales no meduladas adquieren en nuestros preparados un matiz pardo tan débil, que no es posible nunca confundirlas con las fibras meduladas finas, y menos con los gruesos tubos cordonales y motores.

Vamos á exponer ahora sucintamente las enseñanzas del método en los diversos focos nerviosos y sensitivos de la médula y bulbo, sin entrar en detalles que, por otra parte, serán objeto de monografías en vías de redacción.

Focos motores de la médula.—Dejamos consignado ya que el citado proceder permite, escogiendo bien la fase evolutiva, fijar la forma y posición de los focos motores y perseguir con toda comodidad los axones desde su origen hasta su terminación en los músculos (embriones de pollo).

En los buenos preparados del embrión de pollo (del duodécimo al décimo-octavo día), así como en los procedentes de fetos de mamífero de edades correspondientes, hemos confirmado una buena parte de los descubrimientos de Golgi, nuestros, de Kölliker y Lenhossék, etc., sobre la estructura de la substancia gris.

Citaremos entre otros :

a) Existencia de tres clases de neuronas: motrices, comisurales y funiculares.

b) Bifurcación de muchos axones en la substancia blanca y gris para constituir vías ascendentes y descendentes mono y bifuniculares.

c) Bifurcación de las raíces posteriores en rama ascendente y descendente.

d) Existencia de colaterales en todos los cordones de la médula, etc.

Cuanto á la evolución del retículo y detalles estructurales del protoplasma y núcleo, nada diremos por haber sido ya substancialmente expuestos estos temas en comunicaciones anteriores (1).

Bulbo raquídeo. — 1.° *Focos motores del bulbo raquídeo.* — Hemos dicho ya que en los mamíferos recién nacidos ó fetos de término (conejo, perro, gato, etc.), en los pájaros recién salidos del cascarón (gorrión, verderón), en las aves de rapiña de igual edad (garza, cuervo, milano, etcétera), recién nacidos ó de pocos días), y en el embrión de pollo desde el décimo tercero al décimo-sexto ó décimo séptimo día de la incubación, preséntanse los focos motores del bulbo en excelentes condiciones de análisis. Ello se debe á que durante dicho tiempo, hállanse las neuro-

(1) *S. R. Cajal*: Un sencillo método de coloración selectiva del retículo de las células nerviosas. *Trab. de Lab. de Inv. biol.* Tomo II, 1903.

nas motrices en fase de madurez, coloreándose intensamente, mientras que el resto de la substancia gris, salvo algunas neuronas asociativas gigantes (que por otra parte exhiben caracteres morfológicos especiales), no se impregna ó se impregna muy débilmente, sirviendo de fondo á las

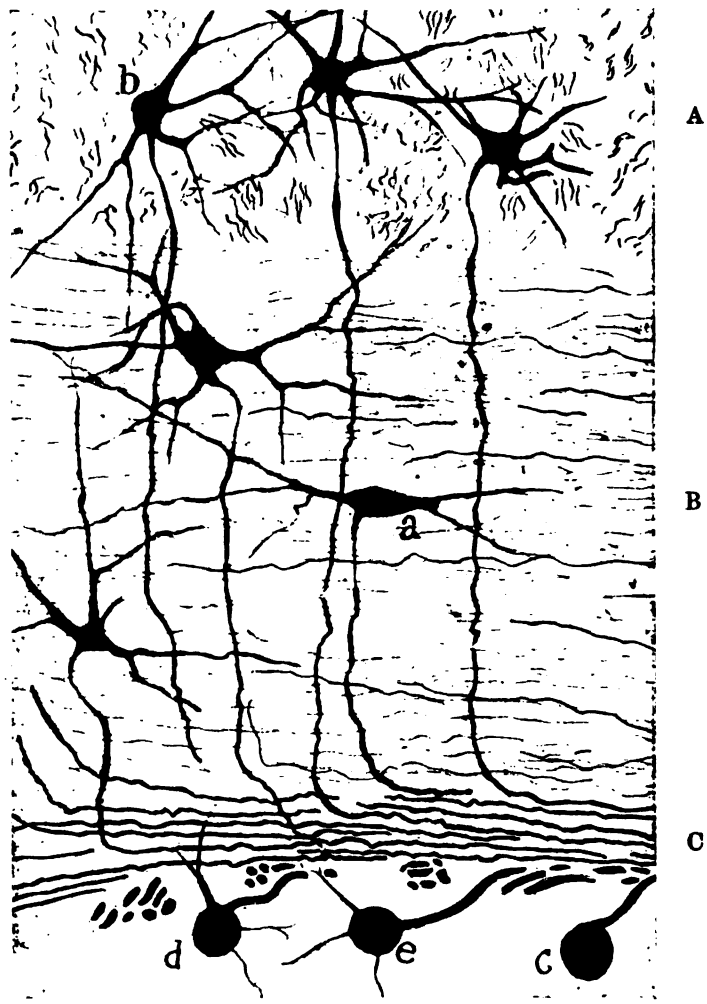


Fig. 1. —Trozo de un corte frontal del tubérculo cuadrigémino anterior del gato de pocos días.—*d*, *e*, *c*, células del foco masticador superior.

robustas y bien teñidas células motrices. Además, el axon motor, sobre todo en las aves de rapiña (figs. 2 y 3, *b*), es muy grueso y su continuidad con el retículo celular aparece con una claridad y elegancia de que sólo viendo las preparaciones puede formarse idea (fig. 3).

Digamos algo, muy sucintamente (porque nuestro objeto no es hacer un análisis metódico de los focos, sino llamar la atención sobre el poder revelador del método en este punto) de algunos núcleos motores de los mamíferos y aves.

a) *Núcleo motor superior ó descendente del trigémino.* — Es este uno de los focos motores cuyas células se tiñen mejor por el procedimiento que nos ocupa, tanto en los mamíferos como en las aves y reptiles.

A la manera de los preparados de Golgi, la nueva reacción presenta las células piriformes ó esféricas, de contorno circular, rigurosamente trazado y provistas de una espesa expansión, el axon, cuyo trayecto puede seguirse muy expeditamente hasta el núcleo masticador principal, según revelaron las investigaciones ya antiguas de Kölliker, Lugaro, nuestras y de Van Gehuchten.

Lo precoz del desarrollo de tales elementos, cuyo retículo adquiere matíz café obscurísimo, en una época en que la inmensa mayoría de los corpúsculos del cerebro medio y bulbo, no se colorean, presta singular comodidad al estudio de los mismos. En los mamíferos (gato, perro, conejo, etc.), el período evolutivo más conveniente corresponde al primero ó segundo día después del nacimiento.

Según es notorio, dicho ganglio posee dos porciones: *infero-posterior ó ancha*, situada en la región dorsal del bulbo y por encima del núcleo masticador principal, y la *supero-anterior ó delgada*, yacente en pleno cerebro medio en las fronteras externas de la substancia gris central y constituída por pléyades dispersas de voluminosos corpúsculos.

La porción *infero-posterior* exhibe corpúsculos piriformes exentos, por lo menos en su inmensa mayoría, de dendritas y prolongados con un robusto axon, de cuyo contorno brotan recias colaterales destinadas al foco masticador principal. Por donde se ve que la nueva reacción confirma plenamente las revelaciones del cromato de plata.

En cuanto á la *porción supero-anterior*, tan difícil de colorear con el método de Golgi, aparece con gran claridad en nuestros preparados, mostrándose, según se ve en la figura 1, *d*, *e*, *c*, formada de grupos celulares diseminados, yacentes entre la vía óptica refleja descendente y la substancia gris central. En el gato y perro dichas pléyades no llegan jamás á la línea media superior del *tubérculo cuadrigémino anterior*, en cuya región la substancia gris central toca directamente la zona de fibras transversales del *nates*. En ciertos casos, las células que nos ocupan se apartan notablemente de la línea general del foco, ya emigrando profundamente en la substancia gris central, ya dislocándose entre los haces de fibras gigantes arciformes vecinas. Es de notar una particularidad difícil de estudiar en los preparados de Golgi, á saber: que á medida que los

elementos residen en un plano más alto ó próximo á la línea media, el contorno del soma se eriza de dendritas, cuyo número llega á menudo á 4 ó 5. Semejantes expansiones se diferencian de las dendritas de los demás elementos en que son cortas, se adelgazan rápidamente y dividen con sobriedad. Entre estas expansiones las hay ramificadas y terminadas en la substancia gris central é insinuadas y divididas en la capa superpuesta de fibras horizontales (fig. 1, *d*).

Por lo que toca al axon, nada más fácil que reconocerlo y distinguirlo de los pertenecientes á otras categorías celulares: así, en los elementos asociativos del *nates*, el cono de origen del axon palidece y se adelgaza rápidamente para continuarse con una fibra recia y muy obscura; mientras que la expansión del corpúsculo masticador superior conserva su espesor originario durante largo trayecto, sin ofrecer estrangulación ni porción subsiguiente obscura y ensanchada (fig. 1, *e*). Por lo demás, este cilindro-eje marcha, como es sabido, de arriba á abajo y de adelante á atrás en los corpúsculos superiores, en tanto que en los inferiores camina inmediatamente hacia atrás, y todos juntos engendran en la frontera de la substancia gris central los manojos diseminados bien conocidos de los autores (fig. 1).

La existencia de las dendritas externas é internas en los corpúsculos masticadores más superiores, debe tener por objeto el establecimiento de relaciones con alguna vía del tubérculo cuadrigémino anterior, acaso con colaterales de la capa de fibras transversales y elementos de la substancia gris central continuados con éstas. Quizá las citadas colaterales provengan de una parte de la vía óptica refleja, la cual, según hicimos notar en otro trabajo (1), entra en conexión en la corteza cuadrigémina con arborizaciones terminales del sistema cerebral descendente *córtico-bigeminal*.

En las ves y reptiles el núcleo motor descendente del trigémino se colorea muy bien con nuestro proceder, mostrando sus células, según ha demostrado mi hermano, una morfología idéntica á la de los mamíferos (2). En curso de publicación las investigaciones de dicho autor, nos abstenemos de exponer aquí detalles sobre la forma, posición y conexiones de estos corpúsculos que exhiben, por cierto, en los preparados del nitrato de plata, intensa coloración selectiva.

b) *Focos motores oculares.* — Preséntanse muy bien coloreados en los mamíferos recién nacidos y de pocos días, así como en los embriones de

(1) *S. R. Cajal*: Las fibras nerviosas de origen cerebral del trabéculo cuadrigémino, etc. *Trab. del Lab. de Inv. biol.* Tomo II, cuaderno 1.°, 1903.

(2) *P. R. Cajal*: El foco motor superior ó descendente del trigémino en las aves y reptiles. *Trab. del Lab. de Inves. biol.* Vol. III, cuad. 2.° y 3.°, 1904.

pollo desde el duodécimo día de la incubación. Singularmente apropiados para el estudio de estos núcleos son los pequeñuelos (recién salidos del cascarón ó de algunos días), de las aves grandes, como la urraca, grajo, gavilán, etc., en las cuales los axones afectan notable espesor y se impregnan intensamente.

No es nuestro propósito describir núcleo por núcleo las pléyades de substancia gris motríz del cerebro medio y posterior. Bástenos consignar que en nuestros preparados se confirman con grandísima claridad los datos substanciales de estructura referentes al *núcleo del motor ocular común*, al del *motor ocular externo* y *patético*. No es raro obtener cortes en donde el retículo celular, coloreado en café obscuro ó rojo chocolate y continuado con el axon, destaca tan perfectamente del fondo general poco teñido de las neuronas asociativas, que el conjunto del foco, incluyendo el origen y trayecto del nervio, muestran la claridad de un esquema. Por lo cual nada es más corriente y hacedero que sorprender en tales cortes el origen, trayecto y emergencia del patético, las diversas pléyades del motor ocular común con el cruce de una parte de sus radiculares, las neuronas y axones del motor ocular externo, etc. En los animales recién nacidos tíñense también, aunque pálidamente, las colaterales gruesas brotadas del *fascículo longitudinal posterior*.

En las aves, aún es más llana empresa estudiar los diversos focos motores oculares, gracias al excepcional espesor de los axones y á la preferente y enérgica coloración de sus células de origen.

Como muestra del aspecto de la reacción en las aves, presentamos en la figura 2, A, B, C, el foco del motor ocular común, bien analizado por van Gehuchten con el cromato argéntico y por Brandis con el de Weigert-Pal. Adviértense tres pléyades ó lóbulos del núcleo : el *supero-externo*, emplazado en una concavidad del *fascículo longitudinal posterior*; el *supero-interno*, situado cerca del rafe, á lo largo del cual desciende cierto trecho, y el *inferior* ó *principal*, residente por debajo del anterior, y alojado en una concavidad ventral del cordón longitudinal posterior. La inusitada claridad con que se presenta el origen de los axones, permite reconocer al primer golpe de vista que las radiculares nacidas de los focos superiores son todas homolaterales; mientras que la inmensa mayoría de las emanadas de la pléyade inferior se muestran decusadas en aspa. Encima de los lóbulos superiores y en la vecindad del ventrículo destaca un núcleo esferoidal, cuyos elementos afectan menor volumen y poseen expansiones más enredadas y largas que las células del motor ocular común (E). Verosímilmente, trátase del *núcleo dorsal* de la calota, muy desarrollado en las aves. En los cortes frontales aparece este foco, en su máximo desarrollo, cuando las pléyades del motor ocular común comienzan

á disminuir. Sus axones finos se dirigen hacia abajo y adentro costeando el resto del *fascículo longitudinal posterior*, sin que hayamos determinado su paradero (fig. 10, *a*).

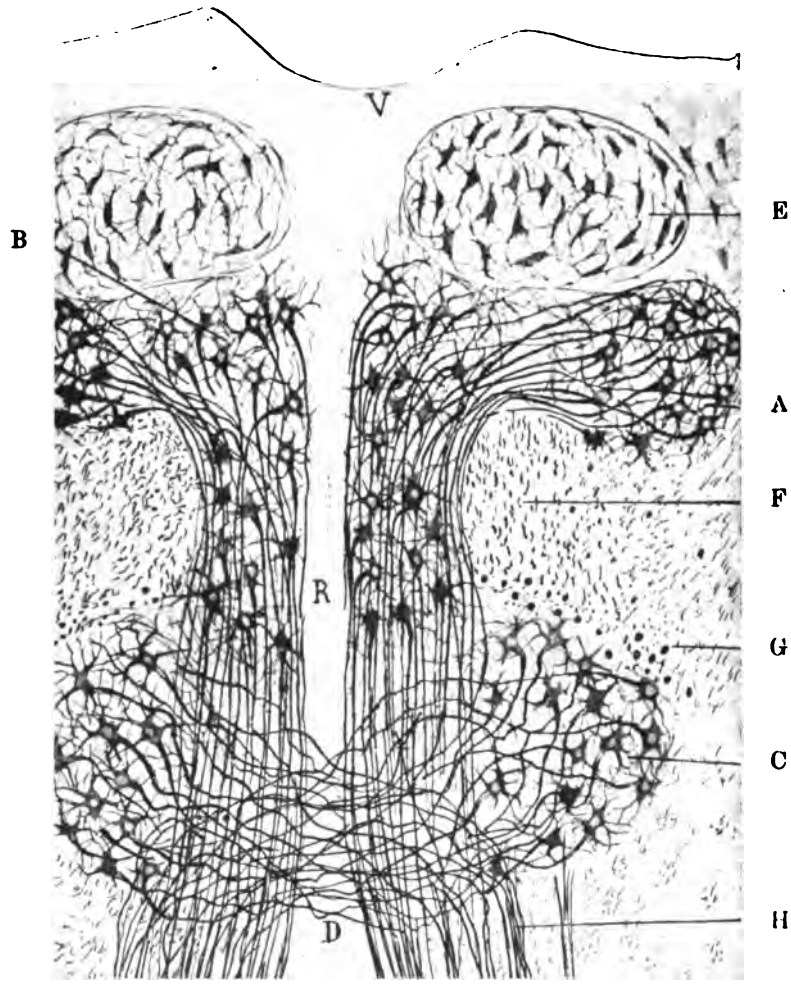


Fig. 2. —Corte transversal de los focos del motor ocular común en las aves (milano de pocos días).—A, núcleo supero externo; B, núcleo supero-interno; C, inferior ó principal; D, decusación de las fibras del foco inferior; E, foco superior de pequeñas células ¿dorsal de la calota?; F, fascículo longitudinal posterior; G, sus tubos gigantes emanados del núcleo intersticial; H, radiculares del motor ocular común; V, ventrículo.

En la figura 3, A, mostramos, con mayor aumento, algunas células del foco del motor ocular común de las aves. Adviértase la figura piriforme del soma, el grosor excepcional del axon, emanado de recio cono

protoplásmico, lo delgado y corto, relativamente, de las dendritas, y la disposición reticulada del armazón del protoplasma, en el cual destaca, por obscuro, un plexo denso perinuclear. Periféricamente, es decir, cerca de la membrana celular, las mallas son más flojas y aún dejan en algunos parajes huecos ó vacuolas correspondientes quizás al aparato tubular de Golgi y Holmgren. En la misma figura 3, B, se reproduce un corpúsculo del *foco dorsal de la calota*.

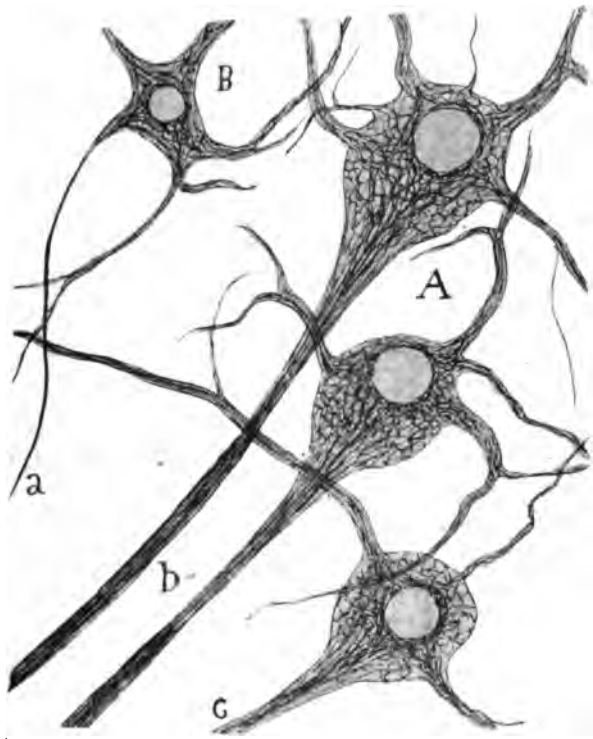


Fig. 3.—A, células motrices del motor ocular común (ave joven) examinadas á mayor aumento que en la figura anterior; B, célula del foco dorsal de la calota; *a*, axon de éste; *b*, *c*, axones motores colosales.

c) Focos motores del vago, hipogloso, etc.—Cuanto referido queda de los núcleos motores oculares, puede aplicarse también á estas pléyades motrices, que en los mamíferos recién nacidos destacan bastante bien del resto de la substancia gris, mostrando muy distintamente el origen y curso de sus radiculares.

Así, el *núcleo hipogloso* se presenta muy ostensible (conejo y gato recién nacidos), exhibiendo, por lo común, una porción antero-interna redondeada, cuyas células se diferencian algo tardíamente, y un territorio

semilunar, de situación postero-externa donde residen elementos cuyo retículo parece más avanzado en evolución. Nada más fácil que apreciar la falta total de entrecruzamiento de las radiculares, y la ausencia de conexiones entre éstas y el núcleo de Roller, compuesto de elementos pequeños y muy alejados aún de la fase de madurez.

El *foco dorsal motor del vago*, consta de corpúsculos pequeños ó medianos, más tardíamente diferenciados que los del *núcleo ambiguo*. Mientras que en el conejo recién nacido este núcleo contiene células voluminosas en fase de madurez, el *dorsal motor* las muestra todavía pálidas y de retículo poco ó nada perceptible. Por esto se hace preciso, si deseamos soprender con claridad el origen y marcha de las radiculares del *núcleo dorsal*, escoger, como objetos de estudio, el conejo y gato de algunos días (de seis á diez días). Por lo demás, dicho foco, así como su contingente de radiculares, se observan muy bien en el embrión de pollo, desde el décimo tercero día de la incubación.

Cabe decir lo mismo del núcleo del VII par. Este territorio gris alcanza precozmente la fase de madurez, y es susceptible de ser analizado desembarazadamente en el ratón, rata y conejo. La persecución de las radiculares, al nivel del codo del nervio, revela la existencia en dichos animales de una porción decusada, por cierto negada por los autores que han trabajado por el método de Nissl.

Células sensitivas y sensoriales.— *a) Ganglios raquídeos.*— Según hemos hecho notar más atrás, coloréanse sus células en el embrión de pollo desde el noveno al décimo día, obteniéndose intensas y bellas impregnaciones en los días once, doce y trece de la incubación (1).

No hay que decir que, tanto en las aves como en los mamíferos, compruébase la bipolaridad originaria de las células sensitivas, descubierta por His y nosotros, y pueden estudiarse con entera comodidad las fases de transición hasta convertirse aquéllas en monopolares.

En la figura 4, presentamos algunos elementos tomados del embrión de pollo del duodécimo día de la incubación, época por la cual una buena parte de los mismos se ha tornado monopolar. Repárese, desde luego, que los corpúsculos menos evolucionados residen hacia el centro del ganglio y exhiben casi exclusivamente una red perinuclear, continuada con las expansiones (fig. 4, E). En fases ulteriores, se añade un armazón filamentoso cortical, flojo al principio, más denso después, hasta impedir ó dificultar la percepción neta del plexo situado en derredor del núcleo.

El paso de la bipolaridad á la monopolaridad deja percibir algunos

(1) Sin embargo, no extrañaríamos que se coloreasen en períodos más tempranos. Sobre este punto, nuestras observaciones no son decisivas por haber ensayado muy poco el método en los días anteriores al décimo día de la incubación.

detalles interesantes (fig. 4, C, G, F). Obsérvese, desde luego, cómo, al aproximarse los orígenes de las expansiones, se aproximan también los haces de hebras procedentes de ambos plexos y muy especialmente del perinuclear (F, G, C), hasta formar, una vez construída la prolongación cónica, un solo fascículo, suma de los dos, al que se añade un grupo de fibras tangenciales, que parecen haberse dislocado á lo largo de la expansión (F). Este sistema de fibras tangenciales, que probablemente establece anastomosis entre los filamentos de ambos haces polares, engendra ulte-

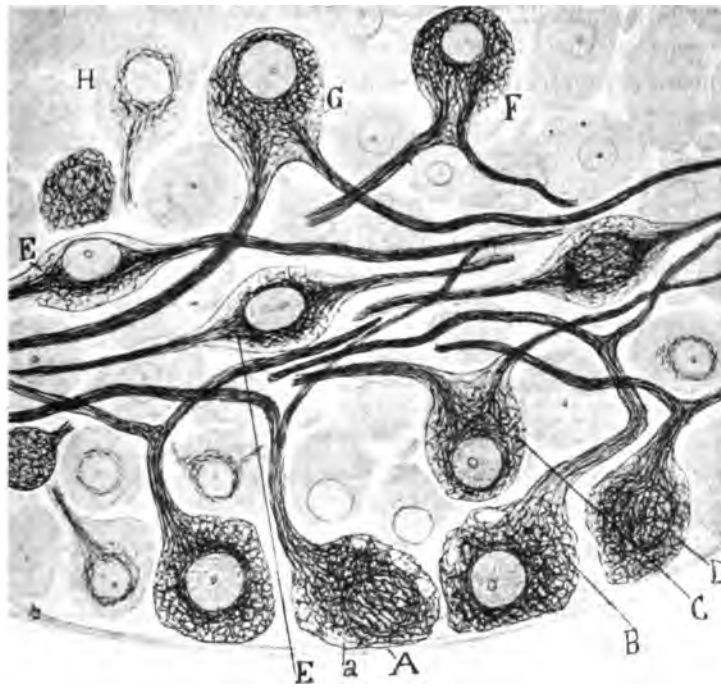


Fig. 4. — Corte de un ganglio raquídeo del embrión de pollo del duodécimo día de incubación. — A y B, células monopolares ; C y D, células de transición ; E, corpúsculos bipolares ; G y F, focos de transición de la bipolaridad á la monopolaridad ; H, elementos inmaturos donde se inicia el plexo perinuclear.

riormente en el ángulo de bifurcación de la citada prolongación un hacecillo arciforme delicado, que parece marchar de una rama á otra de la división en Y (figs. 4, B, y 5, *d*). Por lo demás, este contingente arciforme es muy difícil de apreciar en los corpúsculos adultos, y aun en los jóvenes de morfología casi perfecta (conejo, perro y gato recién nacidos). Compréndese bien, por consiguiente, por qué Michote (1), quien parece

(1) *A. Michote:* La fibre nerveuse et sa bifurcation dans les Ganglions (Methode de Cajal). *Le Nevraxe*, Vol. VI., fas. 2. 1903.

haber trabajado con nuestro proceder en el adulto, no ha conseguido sorprenderlo. En los embriones de pollo, se reconoce, á menudo, este haz neurofibrilar, destinado á enlazar ambas ramas central y periférica. Según se aprecia en la figura 5, *d*, dicho contingente arciforme se mostraba bastante complicado, presentando hacia lo profundo, más que la forma de un haz, el aspecto de una reticulación difusa. En otras divisiones, el puente ó red unitiva no pudo descubrirse (fig. 5, *a*, *b*), apareciendo una larga cisura en el ángulo entrante de la bifurcación. De todos modos, este punto demanda aún nuevas observaciones, difíciles de efectuar, por otra parte, dado el apretamiento de los filamentos constitutivos de la expansión ganglionar, en donde, más que hilos individualizados, disciérnense haces ó cordones.

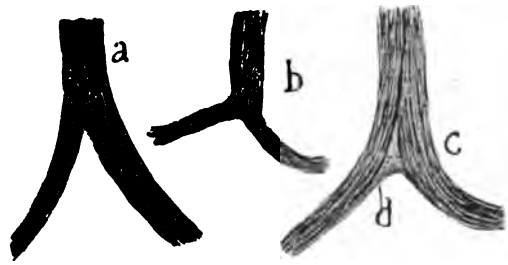


Fig. 5. — Detalles de la bifurcación de la expansión de las células sensitivas en el embrión de pollo del décimo-tercero día de incubación.—*a*, división en dos haces; *b*, división sin raja inicial; *c*, división con puente fibrilar en el ángulo agudo (*d*).

Importa consignar que en nuestros preparados no se descubren más que células sensitivas mono ó bipolares, enteramente desprovistas de ramillas terminadas en el ganglio. Y este hecho negativo tiene cierta importancia, porque en los mamíferos y aves jóvenes (conejo, gato y perro de una á dos semanas, pájaros y pichones de algunos días), suelen colorearse todos los corpúsculos gangliónicos, cabiendo perseguir cómodamente en los cortes gruesos la expansión principal y sus dos ramas. Nos ratificamos, pues, en el juicio emitido en otro trabajo (1), esto es, que los singulares corpúsculos asociativos, descritos por Dogiel (2) (células de expansión ramificada en torno de otros elementos), representan una concepción puramente teórica sin base ninguna en la observación.

b) *Células sensitivas y sensoriales del bulbo raquídeo.* — Desde el noveno día de la incubación, en el pollo, y días antes del nacimiento en los

(1) *S. R. Cajal* y *F. Oloriz:* Los ganglios sensitivos craneales de los mamíferos. *Rev. trim. micr.*, n.° 4, 1897.

(2) *Dogiel*: Den Bau der Spinalganglien bei den Saugethieren. *Anat. Anzeiger*, Bd. XII, n.° 6, 1896.

mamíferos (ratón, conejo, gato), lógrase una aceptable coloración café ó roja del retículo del soma y expansiones en los ganglios anejos al VII (geniculado), V (Gasserio), VIII y IX pares craneales. Con igual eficacia se tiñen los ganglios coclear y vestibular del peñasco.

La expedición y constancia con que se consiguen excelentes preparados de estos focos (fórmula de fijación alcohólico-amoniacal), viene á llenar una laguna, ó por lo menos á descartar una dificultad del método de Golgi y Ehrlich. Cuantos han ensayado estos últimos procedimientos, saben cuán aleatoria es la obtención de buenas impregnaciones en los corpúsculos del ganglio espiral del caracol, ganglio de Scarpa del vestibu-

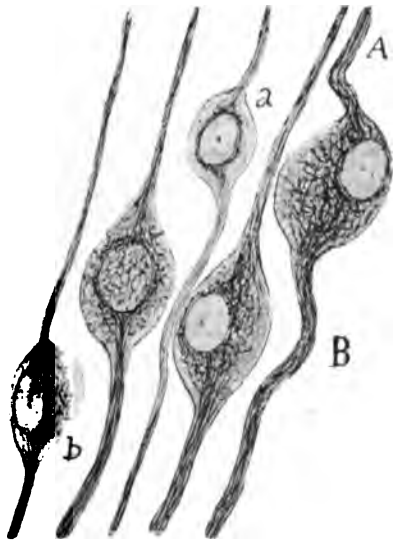


Fig. 6. — Células del ganglio de Scarpa de un embrión de pollo. — A, expansión periférica; B, expansión central; *a*, *b*, células inmaturas.

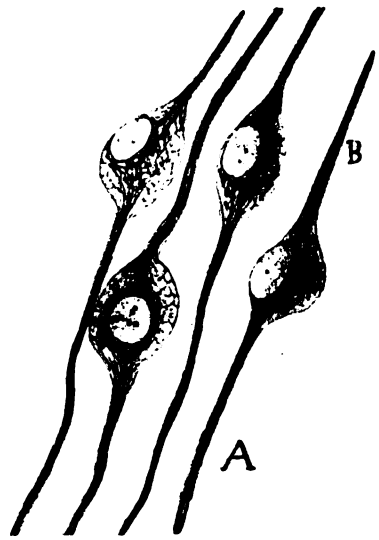


Fig. 7. — Células bipolares del ganglio del nervio coclear del embrión de pollo (12.° día de incubación). — A, expansión central; B, expansión periférica.

lar y hasta de los focos geniculado de Gasserio y de Andersch. Con el nuevo proceder, los buenos resultados son asequibles á todos, con tal de emplear fetos ó animales jóvenes, pues aunque la reacción se logra también en el adulto, el inusitado tamaño de las células, el curso laberíntico de las expansiones y la necesidad de ejecutar cortes finos para que sean suficientemente transparentes, roba no poca belleza y claridad á los cortes. Añadamos aún que la reacción resulta, por lo general, más vigorosa y selectiva en los animales jóvenes que en los adultos.

Gracias á semejantes facilidades, hemos coloreado los ganglios vestibular y coclear de las aves (embriones de pollo desde el duodécimo día,

pichones recién nacidos, etc.), cuyas células, según puede apreciarse en las figuras 6 y 7, reproducen la morfología bien estudiada en el ratón recién nacido por Retzius, Lenhossék, van Gehuchten y nosotros.

Nótese (fig. 6) que los corpúsculos del ganglio de Scarpa son más voluminosos que los del ganglio espiral del coclear y que de las dos expansiones, la interna, según advirtió Lenhossék, supera en espesor á la externa. No así en el ganglio del coclear, donde nos han parecido sensiblemente iguales ambas expansiones. Repárese, además, la existencia en la mayoría de tales células de un plexo denso perinuclear y la posición casi constantemente periférica del núcleo. Una diferencia se descubre al primer golpe de vista, cuando se comparan ambos focos gangliónicos: en el del coclear, todas las células afectan igual tamaño y se hallan en fase de madurez; mientras que en el de Scarpa, ó del vestibular, varían bastante los diámetros de las células, observándose al lado de elementos de retículo enérgicamente coloreado, otros de exígua talla y armazón débilmente impregnado. Como en las células sensitivas, la impregnación comienza también por el plexo perinuclear. Los más voluminosos corpúsculos parecen formados por una red tupida generalizada y sin estratos; ello depende de quo la complicación y espesor de la rejilla cortical impide distinguir bien la central.

c) Prolongación periférica de las células bipolares sensoriales. — En nuestros preparados del embrión de pollo, la expansión periférica de los corpúsculos sensitivos, puede perseguirse bien hasta cerca de su terminación. Con todo, la arborización final misma en la piel y husos de Kühne, es decir, la porción no medulada periférica de las fibras sensitivas resístese á la impregnación. Bajo este aspecto, el nuevo procedimiento es inferior á los de Golgi y de Ehrlich, no pudiendo reemplazarlos en lo tocante al estudio de las ramificaciones terminales en los músculos, tendones, piel y mucosas. Por excepción, empero, se tiñen fácilmente algunas arborizaciones sensoriales periféricas, tales como las del coclear y vestibular, con tal de emplear al efecto fetos ó animales recién nacidos.

En las figs. 8 y 9 presentamos las ramificaciones del nervio vestibular en una cresta ampular de un conducto semicircular del embrión de pollo del decimo sexto día. Las fibras proceden, como se veía en otros cortes, de un grueso ganglio de Scarpa, que en las aves yace en el interior del cráneo, en contacto con el bulbo raquídeo. Nótese cómo, en conformidad con la descripción de Lenhossék y Retzius, dichos tubos nerviosos afectan gran robustez, se bifurcan rarísima vez antes de abordar el epitelio, y sus ramas, todavía espesas, engendran, á favor de sucesivas ramificaciones, un plexo nervioso horizontal situado por debajo de los corpúsculos ciliados.

En los embriones de pollo (del décimo-séptimo al décimo-noveno día) descúbrese una particularidad que no parece existir en los mamíferos. En realidad, el epitelio de la cresta acústica recibe dos especies de fibras: recias ó colosales que afectan aspecto fasciculado, se colorean en rojo ó café claro y se destinan exclusivamente á la porción culminante de dichas crestas (fig. 9, *a*, B); y fibras finas impregnables en negro y destinadas á las porciones laterales de la citada eminencia (fig. 9, A).

El aspecto de la arborización terminal no es igual en ambas categorías de fibras vestibulares. La de las finas ó marginales, responde enteramente al tipo de terminación descrito por Lenhossék en los mamíferos (ratón).

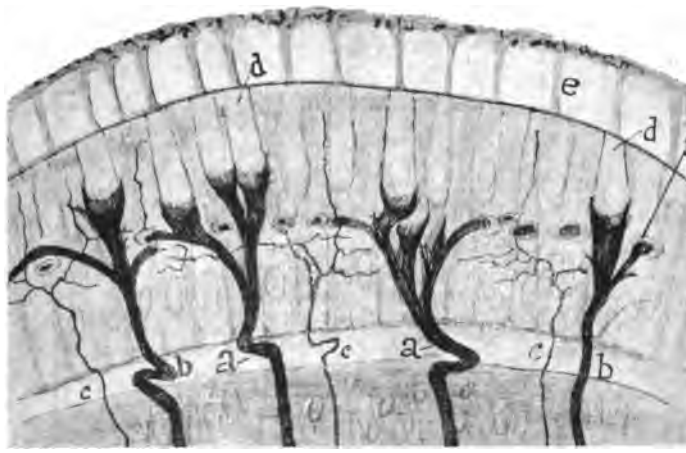


Fig. 8.—Corte del epitelio y terminaciones nerviosas de una cresta acústica del embrión de pollo.—*a*, *b*, fibras colosales terminadas en cálices; *c*, fibras finas; *d*, células ciliadas.

De las gruesas ramas horizontales ó arciformes parten finas ramillas, compuestas, al parecer, de una sola neurofibrilla, las cuales marchan perpendicularmente hasta cerca de la superficie libre, costeando el contorno de las células ciliadas. Mas las fibras colosales se disponen de otra manera. A semejanza de las anteriores, emiten también para el plexo horizontal mencionado algunas ramas; pero lo principal del conductor se dirige espesándose al cabo profundo de las células ciliadas, constituyendo un cáliz fibrilar delgadísimo que rodea formando estuche un 4.° ó 5.° inferior de los referidos corpúsculos. De las caras del cáliz, y sobre todo del extremo libre superior, parten espinas y filamentos, una parte de las cuales se prolonga algo en dirección radial (fig. 9, B). En vez de un cáliz fibrilar, los referidos tubos colosales pueden generar dos, tres y hasta cuatro. La oblicuidad con que ha sido seccionada la pieza en la región

culminante de la cresta acústica (fig. 9, B), permite observar claramente tan notable disposición.

En los cortes rigurosamente perpendiculares (fig. 8, *a*), no se aprecia tan bien el número de cálices; pero, en cambio, se sorprenden con claridad las conexiones de contacto establecidas entre la célula ciliada y el aparato nervioso terminal. En esta misma figura 8, *f*, adviértense á la altura del plexo horizontal de Lenhossék gruesos agujeros, dentro de los cuales aparecen seccionados de través ramos nerviosos; tales fibras, á

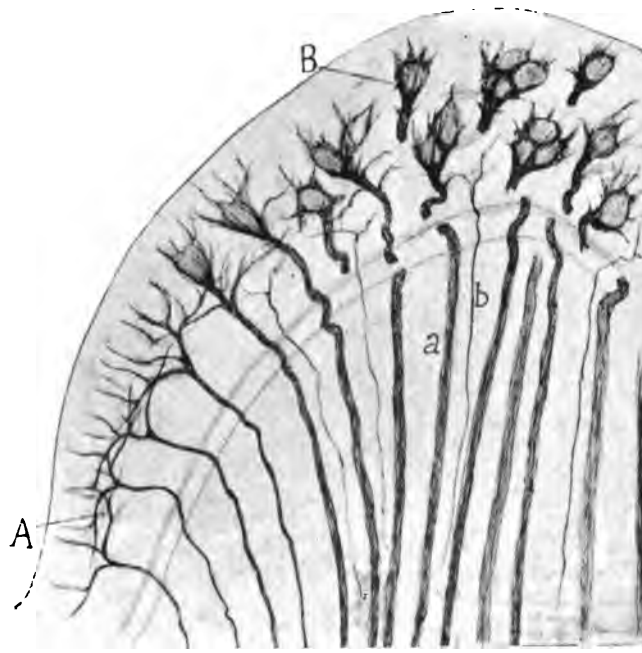


Fig. 9. — Cresta acústica del embrión de pollo cortada algo oblícuamente.— A, porción donde terminan las fibras vestibulares finas ; B, región de las fibras colosales ó cálices ; *a*, fibras gruesas ; *b*, fibras finas.

veces muy robustas, representan ramas horizontales de los tubos colosales, brotadas por lo regular antes de ocurrir las divisiones terminales de éstas.

Añadamos aún que en el territorio de distribución de los tubos colosales penetran y se ramifican algunas pocas fibras más finas que las marginales (fig. 9, *b*, y 8, *c*), cuyo modo de distribución reproducen, engendrando delicado y flexuoso plexo horizontal. Transiciones de tamaño y morfología entre ambas clases de tubos vestibulares (marginales y centrales ó gruesos), reconócense también en las porciones laterales de las crestas.

Los citados cálices acústicos no los hemos hallado todavía en las máculas acústicas. Las fibras observadas en tales parajes del laberinto, se asemejan en un todo, en lo tocante al espesor y comportamiento terminal, á las bien conocidas de los mamíferos.

Por lo demás, los cálices acústicos de las aves han sido ya vistos y dibujados hace tiempo por Retzius (1), que no pudo, por la improcedencia de los métodos, determinar bien la especie de conexiones establecidas entre ellas y las células ciliadas. «Estas fibras colosales — dice Retzius—son de aspecto fibrilar y se mantienen tan unidas á las células ciliadas que ni la agitación de los corpúsculos disociados es poderosa á romperlas»..... «En una ocasión hemos sorprendido, sin embargo, el cabo cóncavo de una fibra nerviosa desarraigado de la célula ciliada». Y más adelante añade: «Es muy posible que los hilos de las recias fibras se terminen dentro del protoplasma, particularidad qne parece evidente en las crestas acústicas del *Alligator*»... «De todos modos, para determinar con seguridad la especie de relaciones existentes entre la célula ciliada y las fibras nerviosas, hacen falta nuevos y más precisos métodos de investigación».

Estos métodos, á los cuales, pensando con gran prudencia, remitía la cuestión el ilustre sabio sueco, han llegado ya; son de Golgi, de que tanto partido supo sacar el anatómico de Stockolmo, para el esclarecimiento de las terminaciones del coclear en los mamíferos, y el presente proceder de nitratación, el cual revela, sin género de duda, la cesación del paquete de neurofibrillas vestibulares en torno y por debajo de la célula ciliada. Cada uno de estos elementos se pone, pues, en contacto con un gran número de neurofibrillas, hecho interesante que brindamos á los autores, que, hostiles á la teoría neuronal, niegan al axon y soma el carácter de unidad fisiológica para otorgárselo caprichosamente á los filamentos intraprotoplásmicos.

Hemos coloreado también los cálices acústicos en los pájaros y pichones de pocos días. Su disposición es substancialmente la misma.

d) *Prolongaciones sensitivas y sensoriales centrales.*—Coloréanse muy tempranamente en los embriones, y por lo común, más intensamente que las células de origen (raíces posteriores de la médula, nervios vestibular y coclear, etc.), y en una época bastante anterior á la fase de madurez de los núcleos grises centrales, en donde se ramifican y terminan. En virtud, sobre todo, de esta última circunstancia, resulta empresa llana

(1) *G. Retzius*: Das Gehörgan der Wirbelthiere. Stockholm, 1884. En este libro monumental se encuentran figuras muy sugestivas de la terminación de las fibras vestibulares (véase, por ejemplo, la Lámina 17, Bd., II de dicha obra), figuras que, á pesar de reproducir preparados por disociación, se parecen mucho á las nuestras.

comprobar la bifurcación de las radiculares sensitivas en el cordón posterior, las divisiones análogas del trigémino, coclear y vestibular, así como el origen y trayecto de las gruesas colaterales. En nuestros preparados, faltan solamente las arborizaciones terminales de todas estas fibras, defecto que si por una parte es de lamentar, puesto que no permite comprobar en los animales jóvenes las revelaciones del método de Golgi, considerado desde otro punto de vista es una ventaja, pues no debemos olvidar que la impregnación de la totalidad de los factores constitutivos de la substancia gris, haría imposible el análisis estructural.

Vías asociativas de la médula, bulbo y cerebro medio. — Al tratar en párrafos anteriores del orden de aparición de la fase de maturación del retículo de las células en embriones y animales jóvenes, hemos hecho notar que la coloración de los elementos funiculares ó asociativos medianos y pequeños, se logra mucho después que el de las neuronas gigantes de igual categoría, las cuales siguen inmediatamente en orden de presentación á los elementos motores. Semejante prelación en el período de selección argéntica, nos proporciona el medio de estudiar con relativa comodidad la marcha de las vías asociativas nacidas en dichos voluminosos elementos.

Varias son las vías de este género que se prestan al análisis en los animales recién nacidos ó de pocos días; mentaremos entre ellas solamente: el contingente nacido del *foco intersticial* del fascículo longitudinal posterior, el *cordón de Monakow* originado en el núcleo rojo, los sistemas centrales del *ganglio de Deiters y de Bechterew*, los vías brotadas del *foco acústico ventral*, las emanadas de los corpúsculos intersticiales gigantes del bulbo, y en fin, las procedentes de la corteza bigeminal.

a) Marcha de los axones del foco intersticial en las aves.—En diferentes publicaciones hemos consignado que, por encima y delante del núcleo rojo de los mamíferos, en aquel paraje en que van disminuyendo ó han cesado del todo las pléyades del motor ocular común, y asoman ya las del enigmático *núcleo de Darkschewisch*, los haces algo dispersos del fascículo longitudinal posterior alojan en sus intersticios células gigantes estrelladas, cuyo axon, después de un curso variable, se torna descendente, ingresando en dicho fascículo longitudinal y constituyendo sus fibras más voluminosas. Aludiendo á la posición de este núcleo entre haces del citado cordón, designámosle *núcleo intersticial del fascículo longitudinal posterior* (1).

(1) *S. R. Cajal:* Apuntes para el estudio del bulbo raquídeo, cerebelo, etc. Madrid, 1895.

—Véase espcialmente: Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados, etc. Tomo II, pág. 551, 1904.

Este hecho interesante, difícil de confirmar en los mamíferos, á causa de la gran inconstancia del método de Golgi, preséntase en las aves jóvenes con una claridad absoluta. Según se advierte en la fig. 10, C, que representa un fragmento de corte frontal del cerebro medio, que pasaba por delante del núcleo del motor ocular común, existe al nivel de esta región calotal, y por debajo del *fascículo longitudinal posterior*, una importante pléyade celular (C). Su posición es inmediatamente por debajo

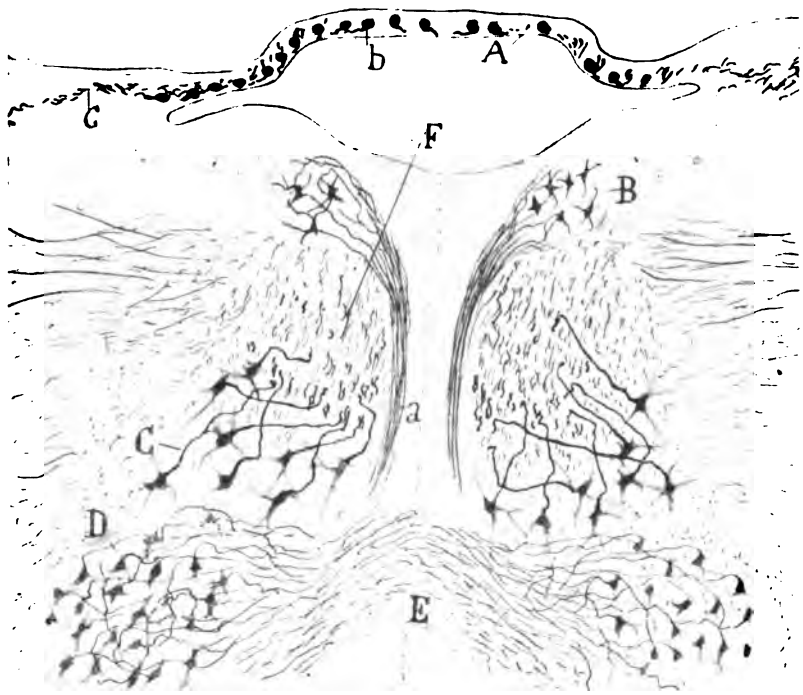


Fig. 10. — Corte frontal de la porción posterior del cerebro medio de la garza.— A, válvula de Viusens con el núcleo motor descendente del trigémino (*b*); B, núcleo de pequeñas células situado por delante y encima del foco del motor ocular común; C, foco intersticial; D, núcleo rojo; E, entrecruzamiento de la vía descendente nacida en el núcleo rojo; F, fascículo longitudinal posterior; *a*, haz que baja del núcleo de pequeñas células (¿dorsal de la calota?); *c*, corte de las fibras de la raíz superior del trigémino.

del referido fascículo, y en parte en sus intersticios, y consta de corpúsculos gigantes multipolares provistos de un retículo riquísimo en haces neurofibrilares y de un axon espeso que, dirigiéndose hacia adentro y arriba, se torna descendente ó fronto-caudal, para continuarse con ciertos tubos colosales colocados en la porción interna y posterior del fascículo longitudinal. Este importante foco, que corresponde evidente-

mente á nuestro *núcleo intersticial* de los mamíferos, engendra el grueso de los tubos descendentes del mencionado haz. Nuestras investigaciones en los mamíferos (1) prueban que las células del *núcleo intersticial* se ponen en contacto con arborizaciones colaterales nacidas en la *comisura posterior;* y puesto que las neuronas de origen de esta vía transversal residen en la corteza bigeminal, territorio de distribución de las fibras ópticas, cabe conjeturar que la vía descendente brotada del *foco intersticial*, representa el principal, sino el único camino, por donde la excitación visual de naturaleza refleja se propaga á los núcleos motores oculares.

b) Nucleo rojo y haz de Monakow en las aves. — Por debajo, y en un plano más externo del núcleo intersticial, aparece una extensa masa gris compuesta de elementos menos voluminosos que los precedentes, y que, en nuestro sentir, corresponden al núcleo rojo de los mamíferos (figura 10, D). En series de cortes del embrión del pollo, hémonos persuadido de que sus axones, dirigidos desde luego hacia atrás y adentro, acaban por cruzar el rafe, para generar, una vez arribados al lado opuesto, no lejos de la línea media, el *fascículo de Monakow* ó vía descendente del núcleo rojo (fig. 10, E).

En los cortes á que correspondía la fig. 10, aparece también la válvula de Viussens salpicada de gruesas células monopolares del masticador (foco descendente) (A, *b*), continuadas con una serie de haces sagitales dirigidos hacia el núcleo motor principal del quinto par.

c) Vía óptico-refleja nacida de las células gigantes de la corteza bigeminal.—Como ejemplo de lo que en punto á vías asociativas sensoriales da el nuevo proceder, presentamos en la fig. 1, el aspecto de un corte frontal del tubérculo cuadrigémino anterior del gato de cuatro días. Por este tiempo sólo toman la reacción en la corteza cuadrigémina los elementos de gran talla, formadores de la vía óptico refleja descendente, y como éstos son poco numerosos, destacan con gran claridad diseminados acá y allá, tanto en el territorio de las *fibras antero-posteriores* (piso inferior), como en la de *fibras transversales*. Nada es más fácil que determinar el origen, curso á través de la calota y decusación inferior del citado sistema visual motor. No es que por esta época (animales recién nacidos ó de pocos días) falten abundantes fibras nerviosas en las susodichas zonas del *tubérculo cuadrigémino;* pero su presencia no estorba á la persecución de los axones de las células gigantes, gracias al espesor notabilísimo y al intenso colorido adquirido por los mismos. Merced, pues, á estas ventajas, cabe observar con gran claridad que todos los cilindros-ejes partidos

(1) *S. R. Cajal* : Textura del sistema nervioso, etc., Tomo II, 2.ª parte, pág. 765 y siguientes.

de los corpúsculos gigantes referidos descienden primeramente en dirección radial, se doblan después en ángulo obtuso, y llegados cerca de la substancia gris central se tornan sagitales, constituyendo un plano de haces robustos, continuados, después de cruzarse por debajo del fascículo longitudinal posterior, con la vía óptico-refleja de Held. Después de cruzadas tales fibras se instalan por dentro y entre las pléyades del núcleo rojo, sin participar, contra el dictamen de algunos autores, en la construcción del fascículo longitudinal posterior.

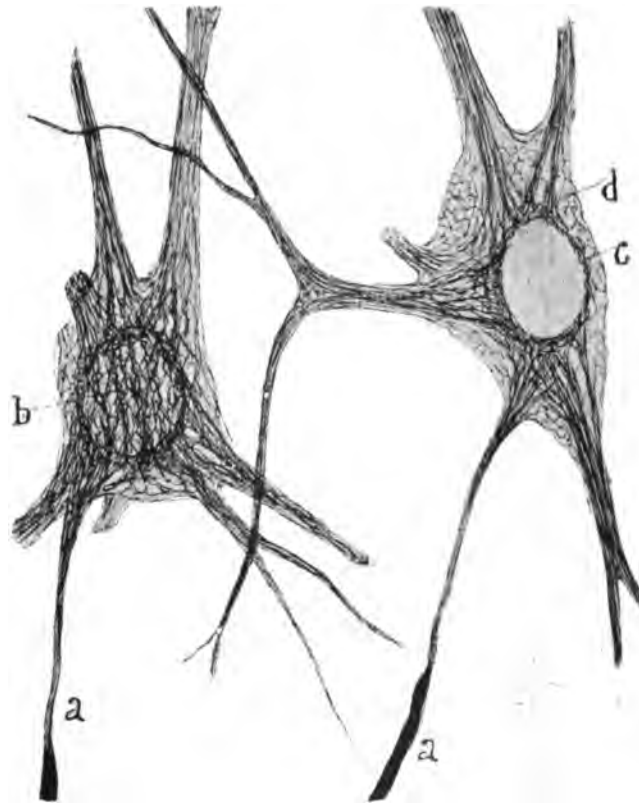


Fig. 11. — Células gigantes formadoras de la vía óptico-refleja. Gato de pocos días. Tubérculo cuadrigémino anterior. — *a*, axon ; *d*, haces llegados de las expansiones ; *c*, plexo perinuclear ; *b*, haces y redes de este plexo.

En nuestros preparados, sólo las células gigantes parecen generar la citada vía. Las fibras finas de la capa de fibras transversales del *nates* (fig. 1, B) exhiben color más pálido y su destino parece diferente. De todos modos, sus células de origen no aparecen coloreadas.

Los detalles de los corpúsculos gigantes del tubérculo cuadrigémino

se muestran en la fig. 11. Adviértese la existencia de un plexo perinuclear complicado, al que acuden recios haces llegados de las expansiones y el axon. La zona cortical, de retículo más flojo y acaso no enteramente desarrollado, permite descubrir vacuolas, correspondientes quizá á los conductos de Holmgren.

d) Vías secundarias en el techo óptico de las aves.—No es nuestro ánimo abordar aquí el estudio de las vías ópticas secundarias nacidas en la corteza del cerebro medio, ni ahondar en la fina estructura de este complejo centro nervioso. Temas son estos que fueron hace tiempo tratados por nosotros y posteriormente por Van Gehuchten, Edinger y mi hermano, á cuyos trabajos remitimos al lector. Por ahora nuestro objeto es llamar la atención sobre la posibilidad de confirmar con el nuevo proceder en los embriones de pollo muchos datos de estructura descubiertos hace tiempo por nosotros (1), datos que, por representar revelaciones de un sólo método (el de Golgi), pudieran parecer, al juicio de autores excesivamente escrupulosos, insuficientemente fundados.

Nuestros ensayos con el nitrato de plata reducido, han dado resultados estimables desde el duodécimo día de la incubación. Por este tiempo coloréanse bastante bien: los axones de la substancia blanca, tal cual fibra centrípeta profunda y, sobre todo, las células de cayado, que representan, como es sabido, una de las principales vías de recepción de la excitación óptica. Ya en esta época, afectan tales corpúsculos figura bipolar con delgadez notable del soma y dendritas polares, exhibiendo con toda claridad el singular axon arqueado, susceptible de ser seguido desembarazadamente hasta la substancia blanca.

Pero los preparados correspondientes al día diecisiete y dieciocho de la incubación son más expresivos, por comprender en fase de madurez, no sólo los elementos en arco, sino una gran cantidad de neuronas ganglionicas de la zona profunda (zona 13.ª de *las células multipolares gruesas*) y algunos elementos de las capas superficiales. Los corpúsculos de arco (día 17) exhiben una morfología que recuerda enteramente la de los elementos adultos coloreados por el cromato de plata (fig. 12, *a*, *b*, *c*). El soma encierra un núcleo alargado incoloro en torno del cual se dispone tenue zona de protoplasma cuyas neurofibrillas principales llevan dirección radial y se condensan en uno, dos ó más tenues hacecillos perinucleares que convergen en las dendritas polares. En algunas células, el haz perinuclear es único y lateral, abultando tangencialmente el núcleo, desnudo, al parecer, de neurofibrillas (fig. 12, *c*). De la dendrita radial procede el axon, es decir, un fino hacecillo de hebras concentrado rápi-

(1) *S. R. Cajal*: Sur la fine structure du lobe optique des oiseaux, etc. *Intern. Monatschr. f. Anat. u Physiol.*, etc., 1891. Tomo VII., fasc. 9 et 10.

damente en cilindro homogéneo, que después de trazar un arco de concavidad profunda desciende en línea recta hasta la substancia blanca. Por este tiempo (17 día de la incubación) faltan aún las colaterales nerviosas ó no se colorean suficientemente.

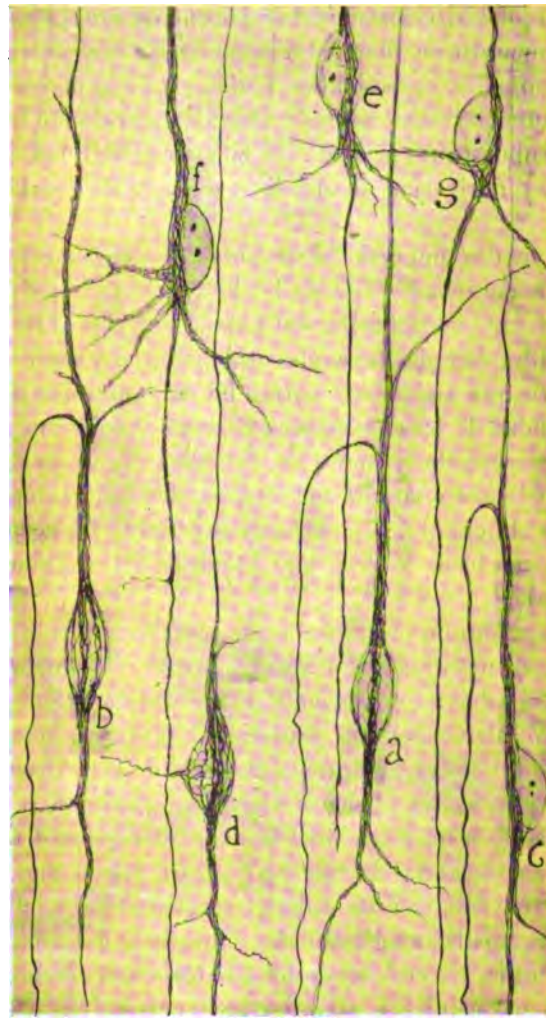


Fig. 12. —Células tomadas del lóbulo óptico del embrión de pollo de diecisiete días. *a*, *b*, *c*, células en cayado ; *e*, *f*, *g*, células de axon basal.

En cuanto á las dendritas radiales, constan de mayor número de neurofibrillas que el axon, al nivel de cuya emergencia es imposible percibir hebras periféricas ó descendidas con la prolongación protoplásmica ex-

terna. Diríase que el caudal entero de neurofibrillas del cilindro-eje emana de la región del cuerpo celular. Sin embargo, imposible es saber, dado el apretamiento de estos filamentos dentro del tallo radial, cuál es su verdadera conexión con el resto del armazón protoplásmico, incertidumbre que nos obliga á no sacar ninguna consecuencia en favor ni en contra de la teoría de la polarización axípeta; porque de igual modo que el soma contiene un aparato de filamentos secundarios que enlazan entre sí los haces longitudinales, ambos tallos radiales y de preferencia el exterior, pudieran contener también estas trabéculas, por donde los impulsos ópticos (en el supuesto no probado de la conductibilidad exclusiva de las neurofibrillas) derivarían desde la prolongación periférica hasta el axon.

De todos modos, importa hacer notar que en las células de cayado como en otras neuronas, se da un hecho de cierta importancia, á saber: que el contingente neurofibrilar del axon es inferior al de la mayor parte de las dendritas, de todas las cuáles no puede tener representación, á menos de admitir que sus hebras entran en comunicación dentro del soma con la pluralidad de las expansiones. Si se pretendiera negar tales comunicaciones transversales y mantener íntegra la doctrina de Bethe acerca de la independencia neurofibrilar (con transmisión exclusiva á lo largo), nos veríamos obligados á suponer que el axon de los corpúsculos de cayado no propaga hacia lo profundo impulsos ópticos, sino corrientes de origen central.

En la misma figura reproducimos además dos tipos celulares hace tiempo descritos por nosotros y confirmados por Van Gehuchten, Kölliker y mi hermano, á saber: *a*) elementos fusiformes de axon periférico (figura 12, *d*); y *b*) elementos más gruesos habitantes en zonas más externas (nuestra *capa* 8.ª del techo óptico) provistos de tallo basilar dendrítico, descompuesto en varias ramas divergentes, expansión radial gruesa extendida hacia lo alto, y, en fin, un axon descendente robusto de que emana tal cual colateral incipiente (*e*, *f*, *g*). Más á menudo que en los elementos de cayado, en éstos asoma lateralmente el núcleo, concentrándose las neurofibrillas longitudinales en un lado del soma.

Finalmente, en los embriones del duodécimo día en adelante, además de las susodichas células, aparecen otros muchos elementos y particularmente ciertas fibras robustísimas de origen central descompuestas en extensísima arborización comprensiva de varias capas. Semejantes conductores, que se asemejan bastante á otros descubiertos por nosotros en el tubérculo cuadrigémino anterior de los mamíferos (fibras cortico-cuadrigéminas), provienen verosímilmente del cerebro, trayendo de éste alguna excitación voluntaria indispensable para el buen funcionamiento de las

articulaciones neuronales del techo óptico. Por lo demás, tales fibras fueron ya mencionadas por nosotros en nuestro trabajo citado sobre el lóbulo óptico y han sido objeto de un buen estudio de mi hermano (1).

INDICACIONES TÉCNICAS

No queremos entrar en nuevas descripciones de focos y vías que serán objeto de trabajos especiales más circunstanciados, y terminaremos el presente artículo exponiendo detalladamente el *modus operandi* del proceder de coloración aludido, que no es otro que el publicado en anteriores Monografías con el nombre de *Proceder de impregnación argéntica, previa fijación en alcohol amoniacal.* He aquí los momentos técnicos esenciales; luego diremos algo de las condiciones del éxito:

1.° Trozos de bulbo, cerebro medio, protuberancia, etc., de reptiles, aves y mamíferos jóvenes, son abandonados durante veinticuatro horas en este líquido:

Alcohol de 40°	50 cent. cúb.
Amoníaco (24° B)	5 gotas (2).

Si las piezas provienen de embriones de pollo, no habrá inconveniente en conservar la envoltura cartilaginosa, si bien se descarnará, para aligerar el objeto de las partes blandas. Los bloques no pasarán de 4 milímetros de espesor.

2.° Previo lavado rápido en agua destilada (algunos segundos), son llevados á una abundante solución de nitrato de plata al 1 por 100. Si las piezas son algo voluminosas, usaremos soluciones más fuertes: al 1'50 por 100 por ejemplo. Según su tamaño, permanecerán los objetos en estufa, calentada á 28 á 32°. de cinco á siete días. Temperaturas más altas (de 35 á 40° y más) pueden usarse también, pero entonces el período de madurez se abrevia y corremos el riesgo de llevar demasiado tarde ó demasiado temprano las piezas al líquido reductor.

3.° Previo lavado, por algunos segundos, en agua destilada para quitar el exceso de nitrato de la superficie de los bloques, se someten por veinticuatro horas á la acción de este baño:

Hidroquinona ó ácido pirogálico	1 á 1'50 gramos.
Agua destilada	100 cent. cúb.
Formol	5 á 10 —
Alcohol de 40°	10 á 15 —

(1) *P. Ramón:* Centros ópticos de las aves. *Rev. trim. micrógr.* Tomo III, 1898.

(2) Usamos la marca Merck. Creemos, no obstante, que todo amoníaco prácticamente puro, dará buenos resultados.

La adición de alcohol, no indispensable, favorece algo la penetración del reactivo. Es preciso no olvidar que el baño reductor penetra débilmente en el centro de las piezas, lo que obliga á menudo á seccionar éstas en el momento de echarlas en el baño reductor, á fin de que no pasen de 2 milímetros de espesor, ó añadir al baño substancias que, cual el alcohol ó la glicerina, exalten su penetrabilidad. Además, el alcohol parece acrecentar el contraste del colorido entre los axones y el fondo. Sin embargo, cuando se desea, más que la coloración enérgica de las células y axones, una fina diferenciación de las neurofibrillas, puede prescindirse de esta adición.

4.° Lavado de las piezas en agua por algunos minutos; alcohol, celoidina y secciones no muy delgadas, que se montarán á la manera ordinaria.

Observaciones sobre las condiciones esenciales del método.—En general, en la fórmula precedente la reacción es constante é igual en toda la pieza, sin las preferencias y azares que sorprenden en los preparados de Golgi; pero el teñido no siempre resulta igualmente bello, lo que depende de variaciones térmicas, y sobre todo, del tiempo de permanencia en la estufa, tiempo que varía algo en razón del tamaño de las piezas, procedencia de éstas, cantidad, etc. Por consiguiente, quien aspire á lograr desde luego buenos resultados, fijará, mediante tanteos, el período de la madurez para cada especie de objetos de estudio. Para ello, un buen expediente, será someter escalonadamente al reductor trozos del tejido desde el cuarto al octavo día, entre cuyos límites de tiempo suele hallarse la sazón (fase del máximo constraste y máxima finura del depósito argéntico). Una vez en el baño reductor, el color tomado por el tejido nervioso, macroscópicamente examinado, constituirá claro indicio de la clase de reacción obtenida, por existir una relación óptica, fácilmente comprensible, entre el grado de finura del precipitado metálico y el color de éste. Así que daremos por fallida toda reacción traducida por un reflejo gris plomizo del interior de las piezas, señal inequívoca de lo basto y granuloso del depósito argéntico.

Al contrario, cuando la pieza, examinada exteriormente, presente un tono café negro, ó negro puro, cabrá asegurar una buena reacción. El microscopio, confirmando la presunción, nos mostrará, sobre fondo amarillo transparente, el retículo de las células y fibras nerviosas coloreado de café ó rojo homogéneo, sin el menor asomo de precipitados granulosos. Consignemos, desde luego, que este efecto corresponde á la *fase de madurez*, mientras que el primero (cortes con reacción granulosa basta y fondos grises) denuncia ya exceso, ya defecto de permanencia en la estufa.

Caso de que no importe obtener imágenes finas de las neurofibrillas, sino más bien un contraste notable entre las fibras nerviosas y el fondo, disminuiremos el tanto del amoníaco del fijador alcohólico, ó fijaremos con alcohol solo de 40°. Lógranse de esta suerte en los animales recién nacidos y fetos, preparaciones en que los axones medulares adquieren tono café negro y aun negro puro, en tanto que los amedulados exhiben matiz rojizo claro.

En los embriones y animales recién nacidos, será señal inequívoca de que la fase de madurez ha pasado, el tono rojizo obscuro tomado por las áreas centrales de los cortes, junto con la presencia, cerca de la superficie, de un limbo gris groseramente granuloso. En tales preparados, los tubos medulados subsisten aún, bastante bien teñidos; pero las células se muestran pálidas ó incoloras, confundiéndose con la tonalidad general rojiza ó rojo-amarillenta del fondo. Con todo, en esta fase no es raro encontrar algunos cortes con zonas de impregnación bastante aceptables.

El método que acabamos de reseñar posee estimables ventajas, pues permite completar, según dejamos dicho, las revelaciones de los procederes de Ehrlich y Golgi, los cuales suelen precisamente claudicar en aquello en que el nuestro se muestra excelente, esto es, en el teñido de las gruesas células y robustos axones; mas adolece también de algunos inconvenientes, que no queremos disimular para no alentar esperanzas excesivas que se convierten después en frialdades é injusticias.

a) Uno de los inconvenientes consiste en teñir débilmente las fibras ameduladas é impregnar solamente algunas especies de arborizaciones nerviosas terminales. No es posible, pues, colorear las ramificaciones terminales de las finas colaterales de la substancia blanca de la médula, bulbo, cerebro medio, cerebro anterior, etc., ni los nidos pericelulares de ciertas neuronas de los centros superiores (núcleo rojo, foco de Deiters, de Bechterew, etc.). En cambio, y en virtud de una singularidad interesante, se impregnan expléndidamente y de un modo constante las cestas ó nidos que rodean las células de Purkinje, así como (modificando algo la fórmula, mediante fijación, durante dos ó tres días, en alcohol de 40° antes de la acción del alcohol amoniacal) las mazas terminales de Auerbach, dispuestas en torno de los corpúsculos motores y olivas acústicas. Bajo este aspecto, las demás fórmulas de impregnación (véanse nuestras anteriores comunicaciones) dan mejores resultados; no obstante, ninguna de ellas es capaz de teñir indiferentemente cualquier plexo nervioso terminal.

b) Otro inconveniente del método para el análisis de la substancia gris, es el colorear simultáneamente todos los elementos y fibras en estado de madurez que existan en la pieza, resultado que obliga, á poco adelanta-

da que se halle la evolución del animal, y á fin de evitar la obscuridad y confusion del conjunto, á examinar cortes relativamente finos. El empleo de vertebrados recién nacidos en estado embrionario, al objeto de disminuir por defecto de madurez el número de elementos impregnables (pudiendo por ende practicar secciones espesas), será el único remedio; á menos que los elementos buscados no se hagan notar por un volumen y morfología excepcionales ó destaquen sobre masas nerviosas pálidas, es decir, ricas en neuronas exíguas y en plexos fibrilares delicados y pálidos.

c) La tercera desventaja, de orden menos importante, consiste en la sobrecoloración adquirida por las zonas periféricas ó superficiales de la pieza y cuando ésta es demasiado voluminosa, y la reunión en un solo corte de territorios periféricos *pasados* por exceso de tiempo, con territorios centrales, bien coloreados ó apenas *pasados*. La eliminación absoluta de tales accidentes sólo se consigue trabajando en piezas pequeñas rápidamente penetradas por el reactivo ó en las rodeadas de tejidos inertes que absorbieron el exceso de reacción. En las gruesas, con todo eso, cabrá paliar mucho las citadas irregularidades: *a)* conservando los bloques nerviosos en la obscuridad hasta el momento de la reducción; *b)* envolviéndolos en una capa inerte cualquiera (gelatina, sangre, etc.); *c)* y sobre todo disminuyendo durante el último día de estufa la proporción del nitrato de plata. Por ejemplo: si la pieza estuvo seis días en nitrato al 1 ó 1'50, las postreras veinticuatro horas permanecerán en un baño al 0'75 ó al 0'50 por 100.

Cuanto al virado de los cortes, no suele ser conveniente en los preparados destinados al estudio de los focos motores y sensitivos en vías de desarrollo; primeramente porque si los cortes son como deben ser, regularmente espesos, perderían notablemente en transparencia, y en segundo lugar, porque en las secciones no viradas, el contraste de color entre el amarillo transparente del fondo y el rojo ó café obscuro de las células y axones, es más favorable á la observación que al alza general de la intensidad debida al virado, el cual transforma las diferencias cromáticas cualitativas en diferencias cuantitativas (matices del gris violado). Casos hay, sin embargo, en que el baño áureo será de provecho, *verbi gratia*: cuando los cortes afecten tonalidad rojiza muy pálida ó cuando el observador se proponga exclusivamente analizar la arquitectura íntima del retículo protoplásmico.

En suma, la fórmula que proponemos no tira á reemplazar á ningún método provechoso de teñido en el estudio de los orígenes de los nervios y vías de la substancia blanca. Su objeto principal es contrastar y confirmar las revelaciones de los procederes de Weigert-Pal, Ehrlich,

Golgi, y el de las degeneraciones. Lo que no obsta para que en algunos casos especiales el nuevo proceder deba ser preferido, por llevar en orden á comodidad de trabajo y á claridad de expresión, la delantera á los demás. Ejemplos donde se patentiza esta ventaja son: las células ganglionicas sensitivas y sensoriales de los embriones, los focos motores bulbares de reptiles y aves, los núcleos sensitivos y sensoriales de células grandes del cerebro medio y posterior de animales recién nacidos, etc.; casos todos en donde la cortedad de las distancias, la robustez notable de las fibras y el retardo evolutivo de muchos elementos, incapaces de seleccionar el precipitado metálico, prestan singular claridad al examen.

Para completar las enseñanzas del nuevo procedimiento, aplicado al estudio de las vías nerviosas, habría que imaginar alguna disposición mecánica que consintiera reconocer en cada corte seriado la posición de una determinada fibra nerviosa. Esta necesidad no se dejaba sentir con los procedimientos de Golgi y Weigert, sino en casos contadísimos. En efecto, el primero colorea únicamente los axones durante cortos trayectos, cesando caprichosamente la impregnación dentro del corte, en tanto que el segundo, excelente para el estudio de vías nerviosas, falla cuando se trata de perseguir un solo tubo, á causa de las interrupciones sufridas por la vaina medular, tanto al nivel de las estrangulaciones, como en el trayecto inicial y terminal de las fibras. El procedimiento del nitrato de plata carece de estos inconvenientes, coloreando, como es sabido, los axones durante la totalidad de su itinerario; por lo cual, si fuera dable reconocer los cabos interrumpidos en cada sección, nada sería más fácil que perseguir un axon durante algunos milímetros.

La resolución de este problema implica la construcción de mecanismos de *reperaje*, dotados de gran precisión, mecanismos en cuya virtud se sucedan automáticamente en un paraje señalado del campo del microscopio los cabos cortados de la fibra ó elemento perseguido.

En algunos casos, no muy difíciles (fibras gruesas bastante espaciadas), nos ha prestado algún servicio este sencillo y todavía rudimentario método de *reperaje:* Marcamos con agujas dos puntos muy próximos de las piezas, de manera que las secciones exhiban en una región poco interesante dos agujeros finos, apreciables con un objetivo de poco aumento. Exactamente con la misma separación y orientación señalamos también, sobre una platina fija de cristal ó de mica, otros dos puntos. En fin, el ocular de que nos servimos lleva una aguja movible (*ocular Azoulay*, pero con indicador corredizo). Dispuestas así las cosas, se comenzará por enfocar el preparado con un objetivo débil, ajustando exactamente los agujeros del corte á los puntos de la platina, se examinará después la pre-

paración con un objetivo suficiente, y se señalará, merced al ocular indicador, el cabo de la fibra ó de la vía nerviosa. Ahora no hay sino proceder de igual modo con los siguientes cortes, modificando á cada examen la posición del indicador, conforme se desplace el extremo del objeto microscópico perseguido.

El precedente método es bastante incómodo, como comprenderá fácilmente el lector. Sería muy preferible, si la construcción no fuese costosa y no implicara un ajuste y centración exactísima de las lentes del microscopio, una especie de platina cinematográfica, que mediante una manivela y mecanismos de engranaje, hiciese pasar sucesivamente por el campo del microscopio un paraje determinado de una serie de cortes pegados á un largo cristal ó montados en una tira arrollada de celuloide. Naturalmente, una disposición de este género, fácil de imaginar, sería difícilmente aplicable á la persecución de una fibra aislada; pero, en cambio, daría resultados bastante estimables, aprovechándola á la determinación del curso de vías nerviosas de algún espesor, que no exigen examen con poderosos objetivos. Tal ocurre con las series de Weigert-Pal (método embrionario de Flechsig), y aún mejor, con las del método de Marchi. Si el mecanismo de cambio de los cortes funcionara con precisión, se tendría la ilusión neta de un movimiento de avance de los tubos nerviosos hacia su origen ó su terminación, algo así como la reproducción abreviada y recapitulada del lento crecer de las fibras nerviosas durante la época embrionaria. Algunos ensayos, imperfectos todavía, efectuados asociando á la platina movible de Zeiss un cinematógrafo en miniatura (*mirógrafo*), nos ha probado que la cosa es factible y susceptible de dar, si un óptico de precisión se encargara de fabricar el aparato, resultados muy aceptables. El punto difícil consiste en el *reperaje*, el cual exige la incansable paciencia del diatomista, puesto que la tira de celuloide debe llevar pegados y rigurosamente ajustados á ciertos puntos ó señales trazados en ella los agujeros marcados en el corte. La platina movible es necesaria para cambiar cómodamente la zona observable; y si gracias al ajuste perfecto y buena construcción del aparato, el centro del corte ó de la zona examinada ocupara exactamente en cada mutación el mismo lugar de la retina del observador, el ocular indicador vendría á ser supérfluo. Ocioso es decir que los citados mecanismos pudieran aprovecharse también para la proyección con flojos aumentos.

CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO DE LA ESTRUCTURA DE LAS PLACAS MOTRICES

POR

S. R. CAJAL

En nuestra primera comunicación (1) sobre los efectos de proceder de teñido al nitrato de plata reducido, afirmábamos que en ciertas circunstancias se obtiene una reducción bastante expresiva en las neurofibrillas de la arborización nerviosa terminal de las fibras musculares. Si el teñido es perfecto cada parte ensanchada de la arborización — decíamos — presenta una rejilla con espacios claros que se estrecha y acaba por desaparecer al nivel de las porciones estranguladas de los ramos terminales.

Recientemente hemos logrado buenas impregnaciones de los músculos oculares del conejo de pocos días, así como del pichón y pájaros muy jóvenes (cuatro á seis días después de la eclosión). De ellas vamos á decir cuatro palabras.

Como se ve en las figuras 1 y 2, el axon de la fibra nerviosa aferente se colorea intensamente en las aves jóvenes, mostrando claramente su estriación longitudinal. En las divisiones, el haz neurofibrilar se condensa, mostrándose casi homogéneo, y la fibra ofrece una porción estrangulada, cual se observa en los preparados coloreados por el azul de metileno y cloruro de oro.

De ordinario, la arborización terminal resulta de la división de una rama cuyo tronco continúa su curso hacia otras placas motrices (figuras 1 y 2). Llegada á la substancia granulosa de la placa, dicha rama se bifurca (fig. 1) ó divide más complicadamente, y de repente los ramillos resultantes se hinchan, como si un líquido transparente hubiera apartado sus neurofibrillas, las cuales aparecen netamente teñidas en pardo ó rojo, dispuestas en plexo flojo y á menudo anastomosadas. En ciertos parajes, la rama nerviosa vuelve á estrecharse, condensándose sus hebras en un cordón donde es imposible observar textura alguna; ulteriormente ofrecerá nuevas dilataciones. De esta primera observación se saca ya una conclusión de cierto interés: que el aspecto moniliforme ó varicoso caracte-

(1) *S. R. Cajal:* Un sencillo método de coloración selectiva del retículo protoplásmico, etc. *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, Tomo II, fasc. 4, 1903.

rístico de la arborización nerviosa, y atribuído por algunos á la acción de los reactivos (cloruro de oro, azul de metileno, etc.), es una disposición preexistente producida por la presencia, entre las hebras de los ramos nerviosos, de una substancia líquida ó semilíquida refractaria á la impregnación argéntica. Las evidentes anastomosis que las neurofibrillas de tales espesamientos exhiben, y que recuerdan el aspecto del retículo de la célula nerviosa, prueban además que en la terminación motriz no se da, como se ha creído, un mero despliegue de neurofibrillas, sino que existe un armazón continuo, en cuya virtud la mayoría de dichas hebras pierden su individualidad, engendrando un sistema de conductores solidarios.

Finalmente, las citadas ramas vuelven á dividirse, engendrando nuevas series de tallos moniliformes de idéntica estructura, los cuales aca-

Fig. 1. — Una placa motriz de los músculos del ojo de un pájaro de pocos días. Nitrato de plata. Fijación con alcohol amoniacal.

ban, no por pinceles, sino por asas, es decir, por el trabéculo curvilíneo de una malla más ó menos complicada (fig. 1).

La precedente descripción se refiere especialmente á las arborizaciones más sencillas de la placa motriz de las aves, de que mostramos un ejemplo en la fig. 1. Pero existen también disposiciones más complicadas que pueden verse en la fig. 2. En estas placas motrices, además de ramas más ó menos gruesas terminadas en punta roma, se perciben varias fibrillas sueltas, tenuísimas, ramificadas, las cuales acaban libremente dentro del territorio de la placa. Tales hebras, que proceden frecuentemente de los puntos de bifurcación de las prolongaciones gruesas, y á veces del extremo de éstas, pueden engendrar un plexo complicado, según se apreciaba en la terminación que copia la fig. 2, *c*.

Ignoramos la significación de estas hebras sutilísimas, que pudieran

muy bien representar ramas gruesas en vías de evolución, puesto que no las hemos visto en aves más adelantadas ni en el conejo de doce días.

En los mamíferos, los resultados han sido menos bellos que en las aves, y sobre todo más eventuales. En la figura 3 mostramos trozos de dos arborizaciones motrices de los músculos del ojo del conejo de doce días. Adviértese en *a* cierta fibra nerviosa aferente generadora de una arborización, cuya forma coincide con la descripción clásica bien conocida. En ella se descubren tallos espesos flojamente reticulados y partes estranguladas sin textura apreciable. Al nivel de los cabos terminales *b*, obsérvase también, no puntas libres de neurofibrillas, sino una malla más ó menos compleja.

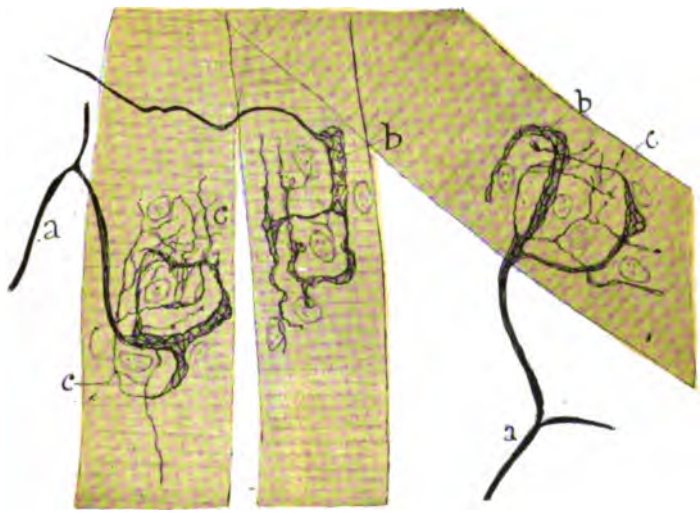


Fig. 2. — Tres placas motrices de los músculos oculares. Pájaro de algunos días. — *a*, axon aferente; *b*, porciones gruesas y reticulares de la arborización terminal; *c*, neurofibrillas libres y ramificadas.

En la misma figura 3, *d*, *e*, presentamos ciertas arborizaciones muy sencillas continuadas con fibrillas nerviosas largas que quizá correspondan á la porción terminal de las *ramas ultraterminales* de las anteriores; porque á menudo se sorprenden sobre fibras musculares provistas además de una verdadéra y típica placa motriz.

En resumen (y para no alargar más esta nota que versa sobre un tema muy incompletamente explorado), de las precedentes observaciones pueden sacarse tres conclusiones: una técnica, otra histológica y otra fisiológica:

1.ª El proceder del nitrato de plata reducido, en sus fórmulas I (fija-

ción en nitrato al 1'50), y sobre todo en su II (fijación en alcohol amoniacal), puede aplicarse al estudio de la placa motriz, á condición de servirse de animales recién nacidos ó muy jóvenes.

2.ª Las varicosidades de la arborización final, así como los cabos terminales, no resultan del despliegue de hebras independientes, sino de una reticulación de mallas poligonales relativamente anchas.

3.ª No existiendo más que redes terminales (por lo menos como disposición principal), la teoría de Bethe y Nissl sobre la independencia funcional y anatómica de las neurofibrillas es insostenible.

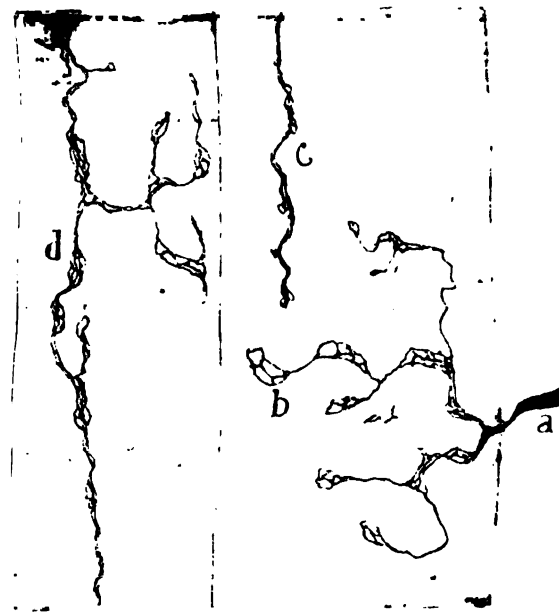


Fig. 3. — Arborizaciones nerviosas en las fibrillas musculares del conejo joven. — *a*, axon aferente; *b*, partes ensanchadas de la arborización; *c*, *d*, fibras terminales alargadas.

Las mismas dudas cabe formular sobre la conducción longitudinal exclusiva de tales hebras. Dada la disposición reticular, es innegable que las descargas motrices deben partir indefectiblemente del trayecto de aquéllas, es decir, en sentido perpendicular á su dirección, so pena de vernos forzados á otorgar también al citoplasma participación en la actividad conductriz.

UN SISTEMA DE FINÍSIMOS CONDUCTOS INTRAPROTOPLÁSMICOS

HALLADO EN LAS CELULAS DEL INTESTINO DE ALGUNOS ISÓPODOS

POR

DOMINGO SÁNCHEZ

Conservador del Museo de Historia Natural de Madrid.

Por inspiración de nuestro maestro Cajal, en cuyo Laboratorio hemos trabajado, hemos hecho aplicación del nuevo método de impregnación argéntica (fórmula I) en varias especies de invertebrados. Los resultados hasta ahora obtenidos, poco expresivos en lo tocante á la fina estructura de las células nerviosas (salvo en el *Hirudo*, donde se obtienen soberbias preparaciones, y el *Helix* y *Astacus*, donde se consiguen impregnaciones bastante instructivas), han sido excelentes en lo relativo á la demostración de los conductos ó redes intraprotoplásmicas de Golgi y Holmgren, que se presentan en las células epiteliales de diversas especies de limacíneas con los mismos caracteres, ya descritos por el profesor Cajal en el *Lumbricus*.

Pero el asunto más interesante y que motiva esta comunicación, es la presencia en las células intestinales de algunas especies de crustáceos isópodos, de unos delicadísimos conductos rectilíneos, semejantes en el aspecto á finas tráqueas, las cuales parten de los espacios plasmáticos subepiteliales y se terminan en el espesor del protoplasma.

En este modesto trabajo sólo nos proponemos dar breve noticia acerca de los rasgos generales de tan singular disposición, dejando para más adelante su exposición detallada, tanto por lo que se refiere á las variaciones que dicho sistema presenta en relación con su distribución topográfica, como á sus diferencias específicas, si, como es de esperar, tuviesen bastante importancia.

El referido sistema obsérvase fácilmente en varias especies de oníscidos (*Armadillidium*, *Porcelio*), y tiene su origen, según dejamos dicho, en espacios interfasciculares del tejido conjuntivo subepitelial del intestino de los referidos crustáceos. De tales espacios, que pueden llamarse *senos* ó *lagunas subepiteliales*, brotan unas prolongaciones cónicas ó conoideas,

verdaderos infundibulos, cuya abertura ensanchada corresponde al seno y la estrecha se dirige á las células epiteliales, penetrando, ya en el interior de éstas ó ya entre los elementos contíguos; y después de un trayecto generalmente muy corto, el vértice del *infundibulum* da origen unas veces á un solo conductillo delgado, otras á multitud de canalículos que, divergiendo más ó menos, se dirigen hacia la periferia de la célula, presentando el aspecto de un elegante pincel. No hay para qué decir que entre esas dos disposiciones existen todas las gradaciones intermedias. Las figuras 2 y 3 dan bien clara idea de estas disposiciones.

Creo conveniente advertir que la mayor parte de nuestras figuras, y aun las descripciones, se refieren de preferencia á preparaciones tomadas

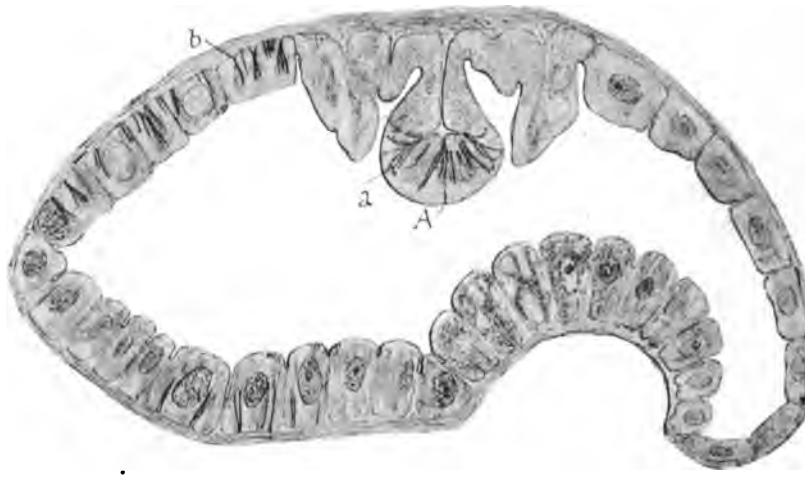


Fig. 1. — *Porcelio ornatus.* — Sección transversal del intestino.

del intestino medio del *Armadillidium vulgare* y del *Porcelio ornatus*, región que, por ofrecer las más grandes células, se presta mejor á la observación de ellas. Hemos procurado dar una representación de conjunto en las figuras 1 y 5, correspondientes á cortes transversales al intestino medio del *Porcelio* y *Armadillidium*.

Antes de reseñar las variaciones de disposición de los mencionados tubos, según la región epitelial estudiada, conviene recordar que el intestino de dichos animales afecta pliegues, cuya morfología es constante en cada especie y en cada segmento del tubo digestivo. Un buen estudio de dichos pliegues ha sido hecho por Manille Ide (1), cuya nomenclatura adoptaremos.

(1) *Manille Ide*: Le tube digestif des Edriophthalmes. — *La Cellule*, t. VIII, páginas 97 y siguientes.

Aun cuando los canalículos ó conductos intracelulares presentan el mismo aspecto en todas partes, nos parece oportuno clasificarlos en varios grupos para facilitar la exposición, según que nazcan en la cara basal de las células ó en los tabiques intercelulares.

La disposición más sencilla está representada por canalículos únicos que nacen independientemente unos de otros en la cara *basal* ó *profunda* de las células (figs. 2 y 3). En algunas de éstas sólo aparecen canalículos de esa clase, sobre todo en las células relativamente pequeñas de cortes correspondientes al intestino anterior ó la porción anterior del intestino medio; pero en las porciones posteriores de éste, en que las células ostentan talla colosal, existen simultáneamente esta disposición y las siguientes. Estos canalículos solitarios nacen de una pequeñísima depresión có-

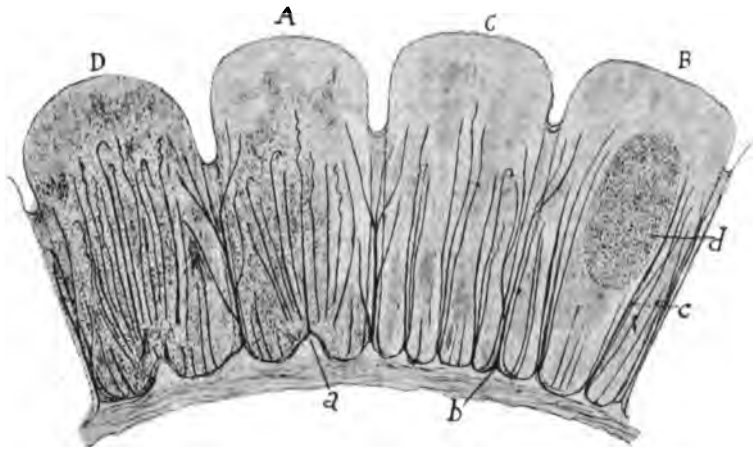


Fig. 2. — *Porcelio ornatus.* — Células altas de la porción ventral del intestino.

nica del seno lacunar infracelular y se dirigen en línea recta hacia el polo opuesto de la célula, siguiendo una dirección casi siempre paralela á la de las fibrillas del protoplasma, con las cuales sería fácil confundirlos, si no fuera por la gran diferencia de coloración (éstas son parduzcas, mientras que los canalículos, cuando están bien impregnados, son completamente negros), y, finalmente, sin alcanzar nunca la cara superficial ó libre de las células, se terminan en pleno protoplasma, dejando entre sus extremos y la membrana celular un espacio pequeño, pero siempre bien perceptible.

Otra disposición muy generalmente observada está representada por haces de canalículos con más ó menos cantidad de éstos, y nacidos de los infundibulos de la cara *basal* ó *profunda* de las células (figs. 2, *c*, y 3). En las grandes células de la región ventral del intestieo medio del *Porcelo or-*

natus pueden observarse con toda claridad muchas variedades de esta disposición. En algunos elementos se sorprende uno solo de estos infundibulos, del cual parten multitud de tubos ó conductillos divergentes que, á m do de pincel, se extienden por el interior del protoplasma, asemejándose con bastante propiedad al varillaje de un abanico, puesto que partiendo del *infundibulum*, divergen cada vez más, terminándose á cierta altura (figs. 2 y 3, *a*), Algunas veces apréciase con claridad la forma cónica de estos conductos, á partir del vértice que corresponde al *infundibulum* de origen.

No es raro encontrar en una célula dos de estos conos, dando origen á otros tantos manojos ó pinceles, en general no muy ricos en tubos, los cuales describen suave curva, cuyas concavidades se miran mútuamente

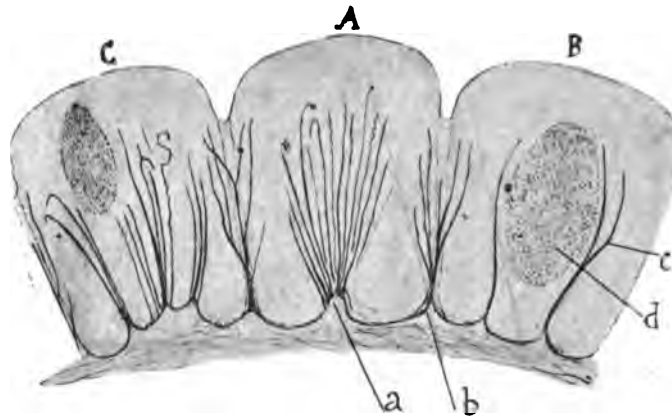


Fig. 3. — *Porcelio ornatus.* — Células anchas de la región dorsal del intestino.

y rodean por cada lado el grueso núcleo celular, que respetan constantemente (figs. 2 y 3, B). En fin, en otros casos, como se observa en la célula C de las figs. 2 y 3, muéstranse tres ó más infundibulos en la cara profunda de una sola célula, dando lugar á otros tantos pinceles extensamente difundidos por el protoplasma, aunque respetando siempre el gran núcleo celular.

En general, puede decirse que no es frecuente encontrar aislada ninguna de estas disposiciones, sino que se las observa de ordinario asociadas á la presencia de canalículos solitarios y además combinadas, acaso sin excepción, á la siguiente.

Considero también como disposición frecuente la constituída por canalículos, ya solitarios, ya agrupados en pinceles que marchan primeramente por los puntos correspondientes á los primitivos tabiques de separación de las células, penetran después lateralmente en ellas, y siguen más

tarde direcciones análogas á la de los conductos que reconocen otro origen ó se inclinan suavemente hacia el interior del protoplasma (figuras 2 y 3, *b*). Esta clase de conductos es acaso la más constante en nuestras preparaciones, tal vez porque su situación permite la impregnación con más facilidad.

Cuando las células son muy grandes y están muy modificadas, como acontece en los pliegues dorsales, tanto del *Armadillidium vulgare* como del *Porcelio ornatus*, los canalículos afectan disposiciones muy diferentes, al menos en apariencia. Sobre ellas conviene fijar algún tanto la atención. En algunos cortes del intestino del *Armadillidium*, como sucede

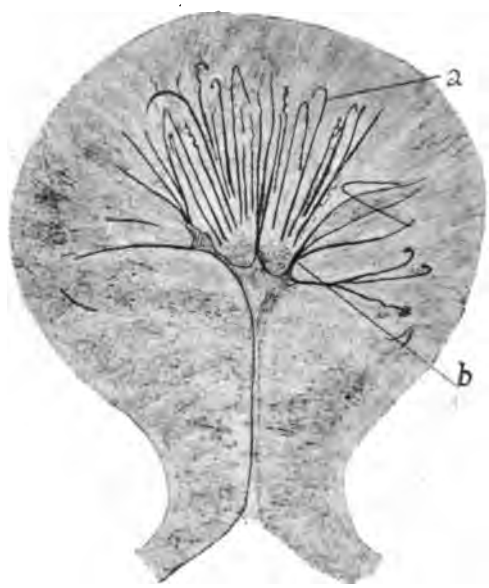


Fig. 4. — *Porcelio ornatus*. — El pliegue dorsal A de la figura 1 amplificado.

en el representado en las figs. 5 y 6, se observa un gran conducto infundibuliforme que, marchando primero entre las dos grandes células centrales del pliegue, se bifurca después para dar lugar á dos pinceles de canalículos dirigidos respectivamente á cada célula. Cada pincel, inclinado hacia el núcleo del corpúsculo correspondiente, forma un elegante arco que contornea dicho núcleo, y se prolonga ramificándose constantemente, hasta extenderse muy cerca de los extremos afilados, por que lateralmente termina el repliegue epitélico (fig. 6).

Es curioso observar que el arco formado por el conducto ó paquete principal de conductos, emite abundantes colaterales por su lado convexo, mientras que por su concavidad ó no los da ó son poco importantes. Por

lo demás, el sistema de canalículos es muy fácil de distinguir, porque su dirección corta en todos sentidos la de las fibrillas protoplásmicas y no hay riesgo de confundirlos con ellas.

En cortes del intestino medio del *Porcelio* (figs. 1 y 4), en que las células están menos modificadas, obsérvase con toda claridad, especialmente en el *typhlosolis* ó pliegue dorsal medio, el gran canal correspondiente al tejido conjuntivo que surca todo el pié del pliegue, llegando hasta el centro de éste; allí se ensancha visiblemente, dando lugar, por una parte, á tractus conjuntivos que penetran entre las células, formando canalículos intercelulares, y por otra á infundibulos, generalmente gruesos, que penetrando en las células dan origen á multitud de conduc-

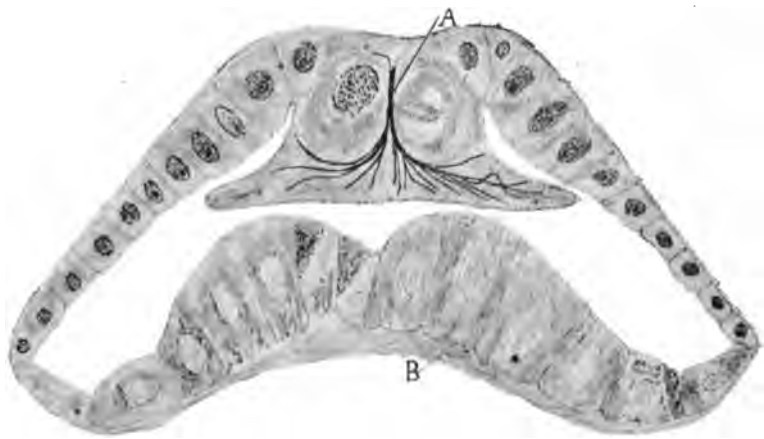


Fig. 5. — *Armadillidium vulgare.* — Sección transversal del intestino.

titos, generalmente algo más gruesos y más numerosos que en las otras células (fig. 4).

Terminación de los conductitos. – Con mucha frecuencia los tubos terminan describiendo un zig-zag, retorciéndose en espiral á modo de barrena ó adoptando la forma de S. En este caso la extremidad no está muy adelgazada, sino que conserva casi el mismo calibre que tenía el tubito al principiar el zig-zag (figs. 2, A, D, y 3, A, C).

Otras veces, y también esta disposición suele observarse con bastante frecuencia, el canalículo se encorva en un gancho ó asa (figs. 2, A, D y 4, *a*) que termina alguna vez por extremidad afilada, pero más frecuentemente acaba por un pequeño abultamiento ó por una serie de dos ó tres ramitas muy cortas, relativamente gruesas y terminadas á su vez por abultamientos (figs. 2, A, C, 3, A, y 4).

Hállanse también en muchas células verdaderas asas que parecen for-

madas por dos conductos unidos por sus extremos ó mejor por uno solo que al llegar cerca de la periferia, se doblase sobre sí mismo, y recorriendo un camino inverso, viniese de nuevo á parar á uno de los infundibulums de la base de la célula (fig. 4). Es indudable que esta disposición debe ser más frecuente de lo que á primera vista parece, sólo que, como las asas suelen estar cortadas, aparece alguna de las disposiciones antes mencionadas, que sin duda por esta razón se presentan con mayor frecuencia.

Por último, se observa también, y este modo parece ser el único en el pliegue dorsal del intestino medio del *Armadillidium vulgare*, una terminación por cabos libres sumamente finos y sin abultamientos de ningún género. En nuestra fig. 6 puede verse que tanto el cabo del arco principal como el de sus ramificaciones, se afinan suavemente y cesan por un extremo sumamente delicado y libre.

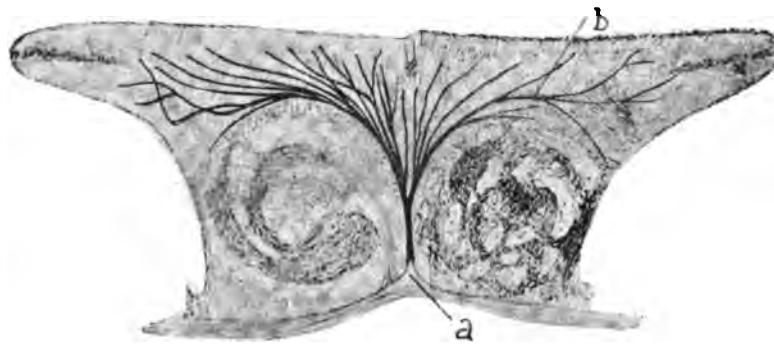


Fig. 6. — *Armadillidium vulgare*. —]Pliegue dorsal ó tiflosolis de la figura anterior amplificado.

Los conductitos que acabamos de describir sumariamente nos parecen constituir un sistema especial diferente de la red perinuclear ó endocelular de Golgi, así como del sistema lacunario de Holmgren, sobre el cual tantas observaciones ha acumulado este sabio (1). Tampoco se parece al sistema tubular varicoso hallado por Cajal (2) en las células epitélicas y nerviosas de la lombriz de tierra, y el cual, según es sabido, yace entre el núcleo y la región superficial del corpúsculo.

(1) *Holmgren* : Ueber die Trophospongien der Darmepithelzellen. *Anat. Anzeiger*, número 21, 1902. Véase también : Ueber die Trophospongien de Nervenzellen. *Anat. Anzeiger*, Bd. 24, 1904. Ueber die Trophospongien der Nevenhodenzellen und der Lebergangzellen. *Anat. Anzeiger*, Bd, 22, 1902, etc.

(2) *S. Ramón y Cajal :* Un sencillo método de coloración de las neurofibrillas, etcétera. *Trab. del Lab. de Inv. biol.* Tomo VII, cuad. 4, 1903.

En cambio, los finos conductos hallados en nuestros preparados de los crustáceos, recuerdan mucho los descubiertos por Cajal en el intestino de la sanguijuela. En efecto, en los nuestros como en los de Cajal, los canalículos parten de infundibulos abiertos en el tejido conectivo, se ramifican poco en el espesor del protoplasma y se terminan á menudo libremente en fondo de saco, no lejos de la chapa ó membrana gruesa superficial. Las solas diferencias existentes entre ambas categorías de conductos, atañen á la finura (los nuestros son mucho más finos y rectos) y al número relativo: los hallados por nuestro maestro, son pocos en cada célula, en tanto que los que nos ocupan suelen ser numerosísimos. Añadamos aún que los nuestros se anastomosan rara vez, mientras que los de Cajal lo hacen con relativa frecuencia.

No es posible negar, sin embargo, que entre las muchas disposiciones halladas y dibujadas por Holmgren, algunas recuerdan más ó menos bien á nuestros conductos. Tales son, por ejemplo, esos recios boquetes que, en sentir del sabio sueco, pondrían en comunicación el sistema cavernoso perinuclear (red de Golgi) con el exterior. Con todo eso, las citadas comunicaciones aparecen tan anchas y se presentan tan poco numerosas en las figuras de Holmgren, que no osamos decir si este autor (que ha trabajado con métodos poco apropiados para formar idea del conjunto del aparato tubular) se ha encontrado en presencia de un aparato semejante al nuestro, aunque fragmentariamente observado. De todos modos, si tal suposición fuera valedera, hay que convenir en que en los animales estudiados por nosotros, los citados conductitos afectan una delicadeza y una abundancia excepcionalísimas.

Sobre lo que no abrigamos la menor duda, es en lo relativo á la absoluta discontinuidad de este aparato tubular con la red perinuclear de Golgi ó el sistema cavernoso de Holmgren, Negri y Cajal. En los preparados en donde aparecen teñidos los finos tubos descritos, no se impregna el sistema cavernoso perinuclear, y, al revés, en aquellos en que éste fija el precipitado argéntico, los canalículos no aparecen. Por otra parte, en aquellas especies en que hemos logrado colorear bien el sistema cavernoso susodicho (revestimiento epitelial de la faringe de gasteropodos pulmonales, Limacidos, etc.). el aspecto y situación de los conductos difería esencialmente de los peculiares de los canalículos intraprotoplásmicos.

Hagamos notar también que si se identificaran nuestros finos canalículos con el arranque de las comunicaciones exteriores del aparato de Holmgren, siempre quedaría un hecho que impediría identificarlos. Refiérome al *neurospongium* de este sabio, disposición extraña, ausente de nuestros preparados. En efecto, y de acuerdo con Cajal, jamás hemos logrado percibir prolongación ninguna de corpúsculos conectivos ó de otro

género, penetrar en los infundibulos. El contenido de los tubitos muéstrase constantemente homogéneo; á duras penas el 1'40 Zeiss deja percibir á veces una finísima membrana ó zona limitante.

Como es natural, en nuestras dudas acerca de la naturaleza de los citados conductitos de los crustáceos, hemos acudido á consultar á nuestro maestro Cajal, el cual ha tenido la bondad de examinar atentamente nuestras preparaciones. En su opinión, tales conductos delicadísimos, representan una variante muy notable de los descubiertos por él en la sanguijuela y no tienen que ver nada con los aparatos de Golgi y Holmgren. Se parecen también algo á ciertos finísimos conductitos observados hace tiempo por nuestro maestro en los músculos de los insectos, y recientemente confirmados por Veratti.

En resumen, y de acuerdo con las ideas de Cajal, nosotros damos por muy probable esta conclusión general:

En las células grandes de diversos vertebrados é invertebrados (acaso en todas) existen tres aparatos tubulares independientes y de significación fisiológica distinta: *a)* El aparato perinuclear de Golgi, con las variantes halladas en diversos elementos por Veratti, Negri, Holmgren y Cajal. Constituye un sistema cerrado formado de tubos cavernosos y moniliformes, correspondiente quizá á la vesícula pulsátil de los infusorios. *b)* Un sistema de tubos de *drenage* ó excretores, merced á los cuales se comunica el espesor del protoplasma de algunas células glandulares con el exterior (Cajal, Retzius, E. Müller, etc.). *c)* Un sistema de tubos nutritivos, ordinariamente muy finos, que parten de las lagunas conectivas y se terminan en fondo de saco en el espesor del protoplasma (Cajal, nosotros).

En fin, en casos contadísimos, por ejemplo, en las células ganglionares colosales del Helix, etc., el sistema irrigador, sumamente ancho, recibiría prolongaciones de corpúsculos conectivos (*trophospongium* de Holmgren). Mas esta disposición descrita por Rohde, Holmgren, Studnicka (1), etc., merced á la cual dos células conviven y se engranan íntimamente, debe reputarse excepcional, y no es legítimo en ningún caso generalizarla á todos los demás elementos.

Para terminar, consignemos aún que los tubos intraprotoplásmicos hallados por nosotros no tienen nada que ver con las fibrillas del armazón ó retículo celular, descritas hace mucho tiempo por Leydig y modernamente por Huet (2) y Manille Ide (3).

(1) *Studnicka: Anat. Anzeiger*, nº 15 u. 16. Bd. 16, 1899.

(2) *Huet:* Nouv. Rech. sur les Crust. Isopodes. *Jour. de l'anat. et de la Phys.*, 1883.

(3) *Manille Ide:* Glandes cutanées a canaux intracellulaires chez les Crustacés édriophthalmes. *La Cellule*, t. VII, pág. 345.

En efecto, el aspecto de estas hebras es muy particular, y no recuerda en nada las propiedades del aparato tubular. Tales hebras son innumerables, exhiben contorno finamente granuloso, y constituyen haces apretados que van, sin interrupción, desde la membrana basal á la chapa superficial. El nitrato de plata no las colorea, ó les presta solamente, y esto con rareza, un tono pardo muy claro. En fin, jamás se terminan en los infundibulos subepiteliales.

Consideraciones fisiológicas. — Los datos precedentes inducen á pensar que los finos conductitos intraprotoplásmicos, puesto que desembocan en los espacios conectivos del mesodermo, desempeñan importante papel en la nutrición de la célula. Mas respecto de cuál sea éste, sólo conjeturas pueden formularse.

La primera que acude á la mente es que dichos canalículos representan un sistema circulatorio complementario del vascular del animal, sistema por cuya virtud las células grandes, difícilmente irrigables por mera imbibición, recibirían jugos nutritivos de los espacios linfáticos subyacentes. Esta opinión ha sido defendida por Holmgren y Studnicka para los gruesos senos perinucleares (aparato de Golgi), en la suposición de que tales cavidades se comunican con el exterior.

Menos probable hallamos la hipótesis de un oficio de absorción, aun cuando la existencia de dicho sistema de canalículos en tramos intestinales donde deben dominar fenómenos endosmóticos, parezca á primera vista dar consistencia á esta conjetura. J. Raymond Murlin (1) ha mostrado que en los *Isopodos* terrestres la absorción, tanto de las substancias protéicas como de las grasas, se verifica en el segmento digestivo donde yacen nuestros conductitos; mas la delicadeza extrema de éstos, muy superior al tamaño de las gotas de grasa, no habla en favor de semejante opinión. Tampoco el hecho de dirigirse las granulaciones absorbidas en ciertos casos hacia el núcleo, depone en pro del referido dictamen. Ni se comprende cómo unos canalículos que no llegan hasta la chapa y se terminan en fondo de saco dentro del protoplasma puedan prestar algún servicio en la colecta de substancias alimenticias, solubles ó insolubles.

Por todo lo cual nos inclinamos á la primera suposición. Estimamos, pues, que los referidos finos conductos (variante interesante de los hallados por Cajal en las células epiteliales de la sanguijuela), representan un sistema nutritivo adicional, continuado con los espacios linfáticos del tejido conjuntivo, del cual toman el plasma circulante.

(1) *J. R. Murlin:* Absorption and secretion in the digestive system of the land Isopods (*Proc. of the Acad. of Nat. Science of Philadelphia.* Mayo, 1902).

Antes de terminar, debemos dar aquí públicas gracias á nuestro maestro el Dr. Cajal, por haber puesto generosamente á nuestra disposición los medios técnicos necesarios á la ejecución de este modesto trabajo, y habernos ayudado, además, en la interpretación con sus valiosos consejos.

Madrid 1.° de Agosto de 1904.

LAS NEUROFIBRILLAS EN LOS VERTEBRADOS INFERIORES

POR

FRANCISCO TELLO

Ayudante del Laboratorio de Histología de la Facultad de Medicina de Madrid.

Por consejo de nuestro maestro el Dr. Cajal, hemos emprendido, desde hace seis meses, una serie de investigaciones sobre el retículo protoplásmico de aves, reptiles, batracios y peces, campo de estudio esbozado solamente por las exploraciones de Apathy (1) en el Lophius, Triton y Rana y por Bethe (2) en algunos vertebrados inferiores.

Técnica. — En este trabajo hémonos servido de preferencia del proceder imaginado por nuestro maestro, 1.ª y 2.ª fórmula, siguiendo fielmente las reglas dadas por él en todos los tiempos, excepto en el de aplicación del nitrato de plata, que hemos tenido que modificar ligeramente (3).

Según nuestra experiencia, las dosis más convenientes para la coloración de los nucleolos, lo mismo que en los vertebrados superiores, son las débiles 0'50 á 1'5 por 100, y, en cambio, para el estudio de las ramificaciones terminales y, sobre todo, las mazas de Auerbach, las fuertes ó al 3 y 6 por 100. El teñido de las neurofibrillas requiere concentraciones intermedias entre las débiles propias de los vertebrados superiores y las altas de los invertebrados; en conjunto podemos decir que, á medida que descendemos en la escala zoológica, son necesarias dosis más fuertes de nitrato de plata para que la penetración se haga en buenas condiciones, y así, en las aves, la disolución generalmente usada por nosotros ha sido el 1'5 por 100 y en los demás el 3 por 100 en estado adulto y normal. En los

(1) *S. Apathy:* Das leitende Elemente des Nervensystems und seine topographischen Beziehungen in den Zellen. *Mittheilungen a. d. zoologischen Station zu Neapel.* Bd. 12. Heft, 1897.

(2) *Bethe:* Ueber die Neurofibrillen in der Ganglienzellen von Wirbelthieren, &. *Arch. f. mikros. Anat.*, Bd. 55.

(3) *S. R. Cajal:* Un sencillo método de coloración selectiva del retículo protoplásmico y sus efectos en los diversos órganos nerviosos. *Trab. del lab. de invest. bio.*, núm. 4, t. II, 1903.

— *S. R. Cajal:* Algunos métodos de coloración de los cilindros-ejes, neurofibrillas y nidos nerviosos. *Trab. del lab. de inv. bio.*, núm. 1, t. III, 1904.

reptiles, durante el sueño invernal, hemos utilizado con éxito las dosis débiles 1'5, 0'75 y 0'50 por 100, que son también las más aceptables para los vertebrados inferiores de pocos días ó jóvenes. Con los procederes de inmersión previa en alcohol y alcohol y amoníaco (1 y 0'50 por 100), empleamos el nitrato á poca concentración, 1, 5 y 1 por 100, pues si bien mayores concentraciones dan también buenos resultados, no ofrecen ventaja de ninguna clase.

Para todos nuestros ensayos nos hemos valido de una estufa de temperatura constante por agua caliente, que se mantuvo comunmente entre 38 y 40°; en ocasiones, temperaturas de 45° nos han servido muy bien en las aves, cuando los trozos eran relativamente grandes, así como en los reptiles y batracios adultos, y, sobre todo, cuando hemos empleado con antelación el alcohol, sólo ó amoniacal. En general, el baño argéntico es poco penetrante, así que es necesario vencer la resistencia de los tejidos forzando la temperatura ó aumentando la permanencia en la estufa. En los reptiles adultos y despiertos, el tiempo de acción de la estufa ha sido de cuatro á seis días; en los de poco tiempo ó en los sumidos en el sueño invernal, de dos á cuatro, y con la fórmula 1.ª (inmersión directa en nitrato), de cinco á siete ó más días. Durante este tiempo hemos tenido los frascos al abrigo de la luz, pues como había observado nuestro maestro, los precipitados de plata que se producen alteran bastante la zona superficial aprovechable en estos trozos pequeños. Aunque hayamos usado como reductores el ácido pirogálico y la hidroquinona, creemos preferible el primero, porque añade á las piezas cierta dureza que permite ensayos rápidos sobre parafina.

Dichas á la ligera aquellas modificaciones técnicas que la índole especial de nuestro objeto de estudio requería, vamos á exponer rápidamente los principales resultados obtenidos en los diferentes grupos de vertebrados inferiores, dejando para más adelante profundizar, mediante trabajos especiales, algunos problemas sumamente interesantes que en el transcurso de nuestra labor se nos han presentado.

I. — Aves

Nuestras observaciones sobre las aves han recaído en la urraca *(Corvus pica*, L.), ruiseñor *(Motacilla luscinia*, L.), jilguero *(Fringilla carduelis*, L.), paloma *(Columba palumbus*, L.) y milano *(Falco milvus*, L.). De los resultados concordantes de todas ellas, podemos deducir que si son grandes las analogías de morfología, distribución y relaciones entre las células nerviosas de mamíferos y aves, no lo son menos las de estructura, de tal modo, que la descripción detallada de cuanto hemos observado en

las aves, no sería más que repetición de lo que nuestro maestro ha dicho de los mamíferos, y para evitarlo, no nos detendremos sino en lo que presente alguna diferencia entre unos y otros, haciendo una rápida enumeración de lo restante. En las aves, como en los mamíferos, la gran complejidad estructural de sus células adultas impide darse clara cuenta de una porción de detalles, para cuya observación es necesario recurrir á las aves de pocos días, que por su escaso desarrollo nos ofrecen á modo de esquemas, donde resalta claramente la fina estructura. Además, el exclusivo desenvolvimiento en cada época de determinados núcleos nerviosos, da un extraordinario realce á sus células y permite ver claramente las expansiones, tanto protoplásmicas como cilindro-axiles (en esta época muy gruesas), que en los animales adultos son muy difíciles de seguir por el gran número de revueltas que describen y por encontrarse en intrincados plexos, en los que existen ramos de multitud de orígenes.

Médula espinal. — Obsérvanse los mismos tipos celulares de los mamíferos, pudiendo diferenciarse los siguientes tipos: *motrices*, *funiculares grandes* y *funiculares medianas* y *pequeñas*.

a) Aparecen constituídas las *motrices* por una enorme cantidad de filamentos primarios y secundarios, formando tan complicada red, que es imposible perseguir el más pequeño trecho sus trabéculas; este armazón se extiende uniformemente por toda la célula, respetando, por regla general, el lugar ocupado por los husos de Nissl, entre los cuales, á modo de alvéolos, yacen los filamentos. Las expansiones protoplásmicas afectan igual complejidad y lo mismo el axon en su origen, el cual, á poco trecho al nivel de la primera estrangulación, funde aparentemente sus neurofibrillas para continuar el resto de su trayecto. En el pichón de veinticuatro á cuarenta y ocho horas, que presenta una médula algo embrionaria todavía, la red es mucho más sencilla (fig. 1, A), de tal modo, que es dable seguir largamente sus filamentos y sorprender sus divisiones y anastomosis repetidas. Aunque en la mayor parte de las células no es posible separar las dos redes perinuclear y superficial, en algunas hácese con mucha facilidad esta distinción. Igualmente es posible perseguir las neurofibrillas desde las expansiones protoplásmicas y origen del axon, hasta el centro de la célula donde se dividen frecuentemente.

b) Las *funiculares grandes y medianas* coinciden completamente con las de los mamíferos, y solamente añadiremos que se ven en ellas los retículos perinuclear y superficial con tanta claridad como en el conejo de pocos días; de ordinario se presentan en una fase algo más embrionaria que en los mamíferos adultos. En las aves de pocos días todavía se perciben mejor las dos redes, aunque la excesiva claridad de los filamentos primarios, por existir pocos secundarios, hace á veces algo confusa la disposi-

ción reticular. Dichas neuronas afectan, por lo común, forma triangular con una gruesa expansión hacia adelante y otras varias hacia los lados y atrás. En muchas células, la orientación de los cortes no permite ver cómo contribuyen las neurofibrillas de las expansiones á la formación de las redes; pero siempre hay alguna que presenta claramente separados los que van á formar la perinuclear (fig. 1, *b)* y los destinados á la superficial. El axon fórmase por hilos procedentes de las dos (fig. 1, *a*). Es de adver-

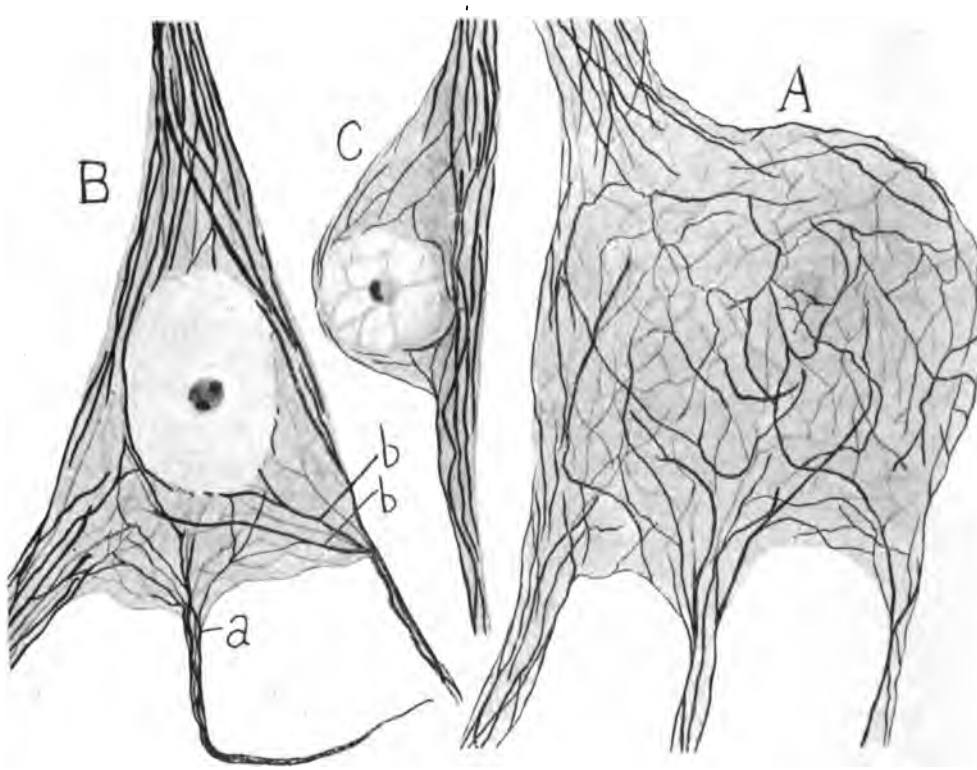


Fig. 1.—Células medulares del pichón de uno ó dos días.—A, Gran célula motriz; B, Funicular mediana; C, Funicular pequeña; *a*, Origen del axon; *b*, Neurofibrillas que van á formar la red perinuclear.

tir, que á medida que el tamaño de las células es menor, los dos reticulos se aclaran, sobre todo el periférico, de suerte, que en las más pequeñas falta por completo y el perinuclear queda reducido á una rejilla clara de hilos muy finos, resultante de la división de una ó dos neurofibrillas llegadas por las expansiones, análogamente á lo que veremos en los reptiles (fig. 14, D). Entre las funiculares pequeñas, es frecuente observar algunas que presentan casi todos sus filamentos primarios acumulados en

una parte del cuerpo celular, rechazando el núcleo hacia el otro lado, en donde forma á modo de una jibosidad rodeada por una red perinuclear. A este plexo concurren alguno que otro hilo primario y multitud de hilos secundarios originados en los primarios antes descritos (fig. 1, C). Muchas funiculares pequeñas ofrecen aún tan escaso desarrollo del protoplasma, que casi todo el cuerpo celular está ocupado por el núcleo, rodeado de delgada zona protoplásmica, donde se distribuyen las neurofibrillas, siendo por esta razón difícil separar en ellas los dos retículos, pero muy fácil la comprobación de que las neurofibrillas forman verdaderas redes.

Como en los mamíferos, es frecuente percibir, en el curso de las neurofibrillas de todas las células medulares, ciertos abultamientos situados de trecho en trecho y observables también en las ramificaciones de las expansiones protoplásmicas. En las aves de pocos días hemos encontrado también alguna célula con la parte perinuclear del retículo poco ó nada diferenciada y algunas en estado grumoso; mas unas y otras son muy raras, porque las médulas examinadas por nosotros, eran, cuando más, de la fecha de la salida del huevo, y por este tiempo la evolución hállase tan adelantada, que las neuronas medulares apenas se diferencian de las adultas, como no sea por la mayor sencillez de los retículos. Usando concentraciones argénticas fuertes (3 y 6 por 100), hemos teñido las mazas terminales de Auerbach y los ensanchamientos fusiformes de trayecto con los mismos caracteres que en los mamíferos.

c) *Ganglios raquídeos.* — No presentan ninguna novedad en las aves adultas, observándose en ellos perfectamente la red de hilos finos y angostas mallas, el glomérulo inicial y las bifurcaciones. Los ganglios en vías de desarrollo han sido estudiados en el ruiseñor de uno ó dos días, y como la evolución en estos centros, lo mismo que en los demás núcleos del sistema nervioso, no se verifica simultáneamente en todas las células, en cualquier momento del desenvolvimiento que se examinen, siempre las encontraremos en diferentes fases, desde la indiferenciación más completa, hasta el retículo más acabado. Si observamos, pues, al microscopio uno de estos ganglios embrionarios, veremos cuatro clases de células: Las más atrasadas no presentan los menores indicios de neurofibrillas, apareciendo todo el cuerpo teñido en amarillo claro, con un pálido y fino retículo, completamente diferente del formado por aquéllas, correspondiente al espongioplasma que se tiñe con las anilinas. En otras un poco más avanzadas, distínguense dos zonas: una gruesa, perinuclear, de color amarillo rojizo, con ninguna ó escasas neurofibrillas, y otra fina periférica, de amarillo claro, sin neurofibrillas. En una fase más adelantada, muestran las células la zona perinuclear con un apretado retículo neurofibri-

lar, de color rojo café, y la periférica de amarillo rojizo, también con alguna neurofibrilla; y por último, las más desarrolladas de todas, exhiben todas sus neurofibrillas teñidas de café obscuro ó negro, pero distribuídas en los dos retículos, perinuclear, cada vez más grande y apretado, y periférico, extraordinariamente laxo, y reducido gradualmente á capas más delgadas. Las células descritas contrastan con las adultas y permiten ver que si bien en éstas el retículo se reparte uniformemente, hay un largo período embrionario con los dos retículos claramente separados. En esta época no se ha desarrollado todavía el glomérulo inicial, y la única expansión que poseen se dirige directamente ó después de algunas inflexiones para amoldarse á los cuerpos de las células, á la bifurcación; toda ella aparece francamente estriada á lo largo, y en ocasiones, principalmente en su origen, es posible ver la disposición reticular de mallas alargadas.

d) ***Bulbo raquídeo.*** — Con los tres procedimientos empleados, pero especialmente con el del alcohol y amoníaco, hemos conseguido preparaciones notablemente bellas de bulbo de ave adulta; pero es tan completa la impregnación (no escapándose sino las pequeñas células de la substancia gelatinosa del trigémino) y tanta la complejidad de esta región del sistema nervioso, que es necesario cortar muy finamente, para darse alguna cuenta de su estructura. Para obviar este inconveniente, hemos hecho su estudio casi siempre en aves de pocos días, que por el exclusivo desarrollo de determinados núcleos, mayor sencillez de éstos y vías correspondientes, y menor complicación de sus retículos, ofrecen positivas ventajas para esta clase de estudios.

Las grandes analogías estructurales que existen entre muchos de estos núcleos, permiten un estudio de conjunto, librándonos de la ingrata y árdua tarea de describirlos uno por uno, fuera de aquéllos que presentan alguna particularidad digna de mención especial. Todas las células bulbares pueden distribuirse, como lo ha hecho nuestro maestro en los mamíferos, en tres grupos: unas que pertenecen al tipo *fasciculado*, otras al *reticulado* y las demás á un tipo intermedio *reticulo-fasciculado*. Caracterízase el primero por poseer muchos hilos primarios, con bastante paralelismo dirigidos de unas expansiones á otras, sobre todo en las células fusiformes y pocos hilos secundarios transversales ú oblícuos, por lo que aparecen constituídas por haces de hilos; el segundo presenta redes formadas por multitudes de filamentos primarios y secundarios, donde aquéllos pierden su individualidad á poco de penetrar; y el tercero pertenece al reticular por la red perinuclear y al fasciculado por la superficial. Hubiéramos de buena gana dibujado una célula de cada tipo, para que el lector pudiera darse más clara cuenta de sus diferentes aspectos,

pero el tener que tratar más adelante de los reptiles, donde se encuentran marcadas las diferencias entre unos y otros mejor que en los demás animales, nos ahorran dichos dibujos. Las células motrices medulares del lagarto (figs. 4 y 12), entre las fasciculadas, las motrices de la culebra en primavera (fig. 15), entre las reticuladas y muchas funiculares medianas y pequeñas de lagarto y culebra entre las reticulo-fasciculadas (figs. 6, 7, 13 y 14), son los mejores ejemplares que podemos ofrecer de cada grupo, salvo el diferente grosor de las neurofibrillas en aves y reptiles. Todavía cabe hacer una distinción del tipo *reticular* en dos variedades: una que pudiéramos llamar *reticulo-irregular*, caracterizada principalmente por la irregularidad de sus mallas, la gran diferencia de grosor entre sus hilos primarios y secundarios y la mayor amplitud de sus huecos; y otra *reticulo-regular*, con mallas poligonales muy regulares, generalmente pequeñas y casi igualdad entre sus filamentos primarios y secundarios. Para hacerse cargo del diferente aspecto de una y otra, compárense las células funiculares del conejo de quince días con las bipolares del espesor del nervio vestibular, dibujadas por nuestro maestro en su Monografía citada, figs. 2 y 9.

De todos los tipos descritos, el menos abundante es el *fasciculado*, que ofrece como muestra el núcleo de células pequeñas del coclear, los más frecuentes el *reticulo-fasciculado* y el *reticulo-irregular*, que comprenden los núcleos del hipogloso, espinal, pneumogástrico, gloso-faríngeo, angular del coclear, dorsal del vestibular, facial, motor ocular externo, células intersticiales, etc., y entre estos dos, en orden de frecuencia figura el *reticulo-regular*, al que pertenecen las bipolares de los ganglios de Scarpa y espiral, las intersticiales ó gangliónicas del vestibular y las del núcleo de células grandes del coclear.

Como se ve por la anterior enumeración y comprobaremos en otras regiones del sistema nervioso, la variedad *reticulo-irregular* preséntase en células multipolares, en tanto que la *reticulo-regular* ó *reticulo-ganglionar* corresponde á células de una ó dos expansiones, pues los elementos del núcleo magno-celular del coclear, que hacen excepción á esta regla, tienen sus expansiones protoplásmicas en vías de atrofia, como si estuvieran pasando á la forma monopolar. Esta concordancia entre la forma y la estructura, tiene á nuestro modo de ver fácil explicación: las células de una ó dos expansiones son esféricas, ó á lo más, ovoideas, formas que se prestan admirablemente á un desarrollo *reticular* de las neurofibrillas; los pocos hilos que constituyen aquéllas se pierden á poco de penetrar en el retículo, sin alterar en nada su regularidad; en cambio, las multipolares de formas poliédricas, más ó menos aplastadas, ricas en husos cromáticos, se ven obligadas á disponer ó concentrar el retículo en tabiques

intergrumosos, y la disposición se complica aún por la llegada de haces de fibrillas arribadas de las numerosas dendritas.

El núcleo de células pequeñas de coclear está formado, como había observado nuestro maestro (1) con el método de Golgi, por células fusiformes provistas de un penacho de dos ó tres dendritas en cada extremo, y con el eje mayor perpendicular al del ganglio. Su estructura es francamente fasciculada, con los hilos coleccionados en un grueso manojo, que se dirige de uno á otro penacho, pasando por uno de los lados de la célula generalmente; por manera que el núcleo y la mayor parte del protoplasma quedan lateralizados; las neurofibrillas son bastante finas, y observando atentamente, se aprecian sus divisiones.

También resultan muy bien teñidas las arborizaciones terminales de las colaterales del coclear, que penetran en este ganglio por sus dos fronteras; están caracterizadas por la presencia de gruesos hilos, que forman verdaderos nidos alrededor de los células y se terminan sin engrosamientos.

El núcleo de gruesas células del coclear presenta sus elementos con estructura reticulo-ganglionar, y sus expansiones protoplásmicas ofrecen de característico, que son engendradas por tres ó cuatro hilitos del retículo que á poco se funden ó se adosan, continuando formadas por un solo hilo algún trecho, hasta que se dividen en otros dos terminales más finos aún.

También aparecen admirablemente impregnados en café obscuro ó negro en el ruiseñor de pocos días, los ganglios espiral y de Scarpa, con estructura reticulo-ganglionar y perfecta distinción, aún mejor que en las anteriores, de las dos redes perinuclear y periférica.

Cerebelo. — El notable desarrollo de este órgano en las aves, hace que las preparaciones obtenidas por los nuevos métodos, sean verdaderamente preciosas para su estudio. En ellas, como en los mamíferos, percíbense las células de Purkinje, las cestas terminales, las fibras musgosas y las paralelas; no hemos podido obtener el bastoncito intranuclear de los granos, pero en cambio observamos muy bien las células estrelladas pequeñas de la capa molecular y las fibras trepadoras.

Tanto el cuerpo de las células de Purkinje de las aves adultas, como su extensa ramificación protoplásmica y el origen del axon, responden perfectamente á la descripción dada por nuestro maestro de los mamíferos, y lo mismo que en éstos, en aquéllas se hace mejor el estudio de su estructura en las de pocos días. Los primeros momentos del desarrollo de las células de Purkinje, han escapado hasta ahora á nuestras investigaciones, por haber recaído en aves recién salidas del huevo, época du-

(1) *Cajal:* Textura del sistema nervioso del hombre y los vertebrados, t. II, 1900.

rante la cual el retículo está ya bien diferenciado, no faltándole sino perfeccionarse progresivamente. La primera fase observada por nosotros, ha sido la llamada por Cajal de *desorientación dendrítica inicial*, con los mismos caracteres apreciados por él en el perro de tres ó cuatro días; sin embargo, un hecho no apercibido hasta el momento actual en los mamíferos, llama extraordinariamente la atención en la urraca de tres ó cuatro días, así como en otras aves jóvenes, y es que las células de Purkinje

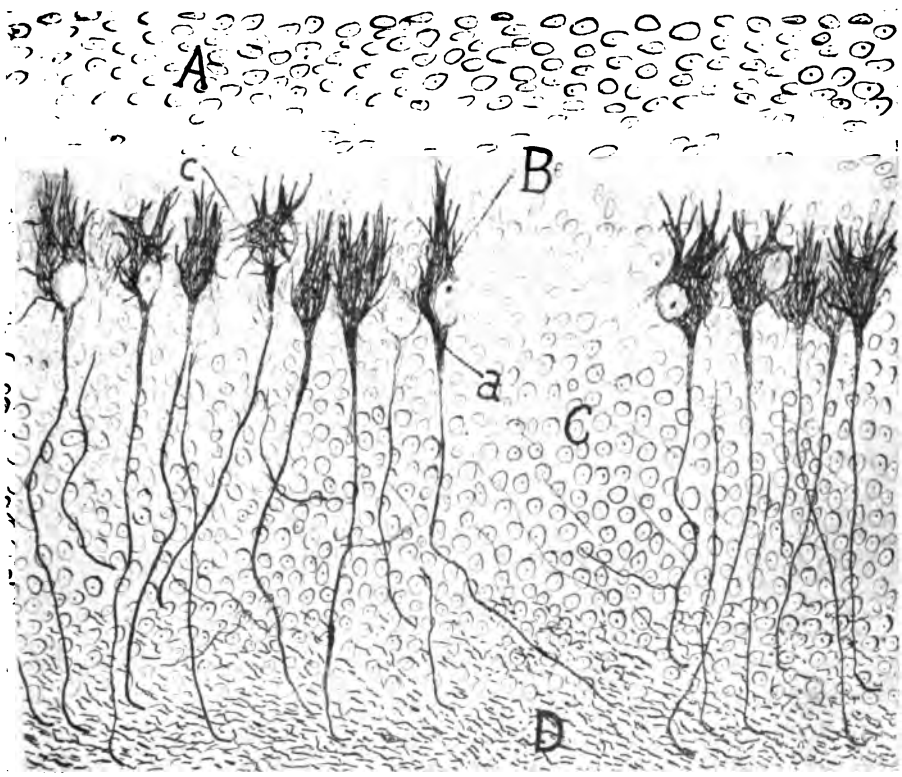


Fig. 2.—Corte transversal de cerebelo de urraca de tres ó cuatro días, en la fase de *desorientación dendrítica inicial*. — A, granos superficiales ó capa de Obersteiner; B, Capa de células de Purkinje; C, Granos del cerebelo; D, Substancia blanca cortada de través; *a*, Origen del axon; *c*, Expansión protoplásmica.

no se disponen en capa continua á lo largo de las circunvoluciones cerebelosas, sino que en los cortes antero-posteriores y transversales (fig. 2, B) muéstranse en grupos de dos ó tres á treinta y más células, separadas por espacios de dimensiones análogas á grupos de dos á ocho células; en los cortes tangenciales, los grupos son de forma elípica ó rectangular los más largos, de idénticas dimensiones á los anteriores y separados por los

mismos espacios vacíos. No deja de ser interesante que los huecos ó espacios que separan las pléyades celulares, formen líneas antero-posteriores, de manera que si la sección cerebelosa es horizontal, dichos huecos se presentan en cada laminilla exactamente en los mismos parajes. También es de advertir el extraordinario grosor de sus axones, así como la desusada longitud de sus conos de origen (fig. 2, *a*), que llegan á tener en ocasiones tres y cuatro veces la longitud de la célula entera. A esta fase sigue la de *orientación y regularización de las dendritas* (Cajal), en la que todavía el retículo es claro y las dendritas se presentan como deshilachadas ó desgarradas, según la feliz expresión de nuestro maestro, pero ya manifiestan su penacho ascendente, siendo al final de este período cuando mejor se puede estudiar la estructura de éste, apreciándose evidentemente que es reticular, sobre todo en las dicotomías, sin que haya filamentos libres interdendríticos. Desde este momento el penacho va adquiriendo la madurez progresivamente, pero es posible distinguir en el soma dos fases todavía: una en que se aperciben perfectamente dos retículos, perinuclear y periférico, sin ninguna expansión protoplásmica lateral ya, y otra en que la sucesiva complicación adquirida alcanza al retículo periférico, fundiendo los dos en uno, como se encuentra en las células adultas. Las fechas de la vida del animal en que se verifican estas transformaciones, varían extraordinariamente de unos á otros, de tal modo que mientras la urraca de tres ó cuatro días se encuentra en el primer período, el pichón de uno ó dos días los hallamos en el tránsito del segundo al tercero.

A menudo los hilos del retículo se presentan con espesamientos fusiformes prolongados que atraen más vivamente la plata que las porciones adelgazadas.

Las cestas terminales obsérvanse ya en las preparaciones en que aparecen bien teñidas las células de Purkinje; pero como en todas las ramificaciones terminales ocurre, hay cierta oposición entre la célula envuelta y la ramificación; así cuando aquélla está bien teñida, ésta resulta algo pálida y viceversa. Las más hermosas preparaciones de cestas que poseemos son de jilguero adulto, y en ellas aparecen las células de Purkinje sumamente pálidas, impregnadas de un color amarillo fusiforme, donde se destacan muy bien el núcleo y el nucleolo. Las cestas son muy ricas en fibras y forman un grueso pincel en el origen del axon, como había observado nuestro maestro con el método de Golgi.

Las fibras paralelas aparecen teñidas también y se corresponden en todos sus detalles con las de los mamíferos.

En el pichón y milano de quince días hemos conseguido impregnar las células estrelladas de la capa plexiforme, encontrando los dos tipos des-

critos por Bethe (1) en el perro, uno de células piramidales ó fusiformes (fig. 3, A) con el eje mayor perpendicular á la superficie, situadas á la mitad de la capa, y otro de células con el eje mayor paralelo situada en la parte más baja, entre los tallos de las células de Purkinje (fig. 3, B); además, encuéntranse células que pudiéramos llamar de transición entre unas y otras, tanto por la forma (fig. 3, C) como por la situación. Estas

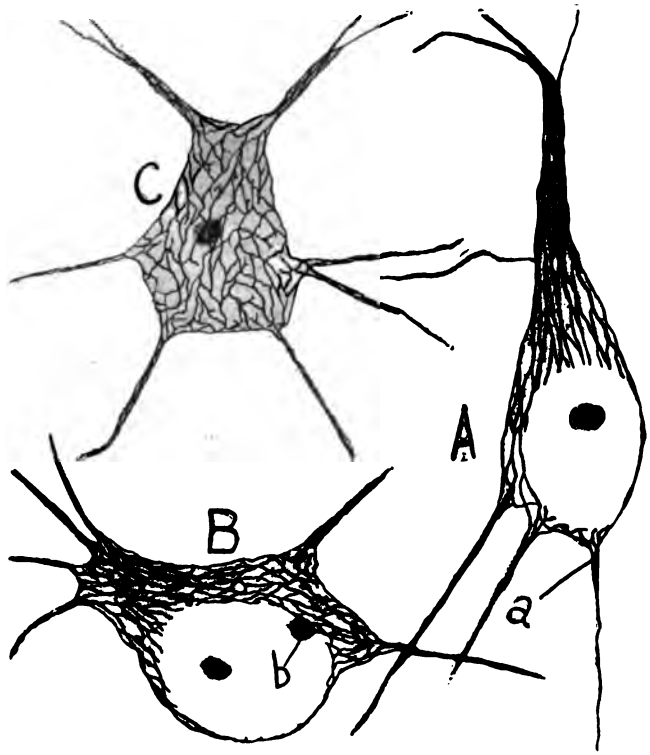


Fig. 3. — Células estrelladas pequeñas del cerebelo del pichón de quince días. — A, Célula piramidal; B, Célula horizontal; C, Intermedia; *a*, Origen del axon; *b*, Cuerpo accesorio.

variedades deben depender indudablemente de la necesidad de adaptarse á los huecos que dejan entre sí las ramificaciones de las células de Purkinje, pues por lo demás la estructura es análoga en unas y en otras; el cuerpo aparece formado por un retículo algo más espeso alrededor del núcleo, al que llegan por cada expansión unos cuantos filamentos, que

(1) *Bethe*: Ueber die Neurofibrillen in den Ganglienzellen von Wirbelthieren und ihre Beziehungen zu den Golginetzen. *Archiv. f. mickrosk. Anat. u Entwick.* Bd. 55, año 1900.

sólo se pueden ver aislados en su comienzo, porque á poco se aplican de tal modo que es imposible el diferenciarlos, aunque siempre se distingue la expansión como una madeja de hilos; no así el axon, cuyos hilos se funden á poco de comenzar de modo análogo, apreciándose desde este instante un solo hilo. No hemos podido hallar en lo más mínimo los filamentos independientes que, según Bethe, pasarían de una expansión á otra, debiéndose esto probablemente al empleo por dicho autor, de métodos que no revelan bien los filamentos secundarios, pues los primarios sí llevan las direcciones expuestas por Bethe. Es muy frecuente en estas células, sobre todo en las horizontales, que el núcleo ocupe una posición excéntrica, quedando casi todo el retículo á uno de los lados, generalmente el periférico.

Las *fibras trepadoras* las obtuvimos por primera vez en el cerebelo de un niño de cuatro años, en el que se habían teñido además las cestas admirablemente, y como las células de Purkinje eran de un color amarillo pálido uniforme, al paso que las fibras trepadoras y las cestas estaban impregnadas de café obscuro ó negro, podía seguírselas perfectamente. Análogos resultados hemos obtenido después en el milano, viéndose las fibras cruzar el cuerpo, adaptarse al tronco y continuar después toda la ramificación dicotomizándose donde lo hace la dendrita, y acompañándola hasta sus ramos terminales.

En la urraca de pocos días aparecen (aunque también los hemos obtenido en las demás aves examinadas) con mucha claridad los ganglios cerebelosos centrales (oliva, émbolo y ganglio del techo), constituídos por células multipolares de las variedades reticulo-fasciculada y reticulo-regular.

No nos ha sido posible impregnar el retículo de los granos del cerebelo, lo cual no tiene nada de particular, pues ya en los mamíferos le costó gran trabajo á nuestro maestro el llegar á teñirlo en algunos del gato y otros, no consiguiéndolo después de muchas tentativas en el conejo; y es que en células con tan escaso protoplasma, la red es muy fina y delicada, siendo necesario sorprenderla por los reactivos en condiciones todavía no bien determinadas, para que la impregnación tenga lugar. Esto por lo demás, es fácil de observar en casi todas las regiones del sistema nervioso, en el que, por regla general, la resistencia á teñirse está en razón inversa del tamaño de la célula, siendo las grandes las que con más facilidad se impregnan, claro es que granulosas y de color rojo claro, cuando no hay indicios siquiera de las medianas y pequeñas; á estas siguen las medianas y, por último, las pequeñas, que se obtienen con dificultad y cuando la excelente impregnación de las voluminosas indica que hemos llenado las condiciones óptimas para la reacción.

Las fibras musgosas aparecen también en nuestros preparados; en ciertos pasajes de su curso así como en la terminación misma (urraca de pocos días), hemos observado que las excrecencias terminales ó musgosas están constituídas de una red complicada, y en ciertos casos por un asa, disposición ya mencionada por Cajal. De todos modos, en las aves jóvenes la arborización de las fibras musgosas es muy sencilla.

Cerebro medio y entrecerebro.—Encuéntranse los mismos tipos que describíamos en el bulbo: *fasciculado*, que comprende las células intersticiales de la substancia reticular, *núcleos motores oculares externo y común*, *núcleo rojo*, *núcleo intersticial*, *tubérculos cuadrigéminos*, *tálamo óptico*, *cuerpo estriado*, etc.; y *retículo-ganglionar* que exhibe el núcleo accesorio del masticador.

De todos estos núcleos hay alguna particularidad que mencionar, pero como de ello se han de ocupar nuestro maestro y su hermano P. Ramón, en otros dos artículos de este mismo fascículo, á sus descripciones nos remitimos, no sin hacer constar que con estos procedimientos, sobre todo el del alcohol amoniacal, no hemos perdido un solo corte, obteniendo series muy largas y altamente instructivas, que conservamos.

Corteza cerebral. — Tanto las pirámides grandes y medianas con sus dos retículos, como las pequeñas escasas de protoplasma, con pocos hilos muchas veces lateralmente colocados, se adaptan completamente á la descripción de los vertebrados superiores.

Ganglios simpáticos.—Sus células, como las de los mamíferos, presentan reticulación todavía más fina que los ganglios raquídeos, y observando, sobre todo aves de pocos días, se ven claramente separados los dos retículos; la diferenciación de las neurofibrillas es algo más tardía que en los raquídeos, pues por esta época encuéntranse todavía la mayor parte de las células en la fase de indiferenciación ó con apenas tingible red perinuclear.

Retina.—Hemos obtenido las neurofibrillas de las células horizontales, espongioblastos y ganglionares, resultando perfectamente teñidas, sobre todo las ganglionares dislocadas de Dogiel. Los resultados armonizan con la reciente descripción de v. der Stricht y Cajal.

REPTILES

Dirigidos, como hemos advertido al principiar este trabajo, por nuestro maestro en el estudio, con los nuevos métodos, de la estructura de la célula nerviosa en los vertebrados inferiores, los animales en que obtuvimos desde luego resultados positivos fueron los reptiles. Con los primeros éxitos en el lagarto y lagartija, publicamos una «nota preventiva»

en Diciembre de 1903 (1), tratando de hacer resaltar la importancia que pudieran tener las neurofibrillas colosales de los reptiles, para resolver problemas tan debatidos como la independencia ó adhesión de las neurofibrillas, anastomosis de éstas con las terminaciones nerviosas, etc., bien ajenos por entonces de que estas investigaciones morfológicas y estructurales hubieran de aprovechar para la demostración de la variabilidad del retículo en los diferentes estados funcionales. Aquellas colosales neurofibrillas, que la casualidad de empezar nuestros trabajos en pleno invierno, cuando estos animales se encuentran en sueño letárgico, nos hizo observar, fueron afinándose á medida que los rayos de un sol primaveral los colocaba en un estado intermedio entre la vigilia y el sueño y quedaron reducidas á la delgadez ordinaria propia de las aves, y aún más exígua, cuando el calor alcanzó la suficiente energía para sacarlos por completo de su letargo, siendo tan notable la transformación, que á primera vista nadie pudiera creer que se trataba de células de un mismo animal ó cuando menos de la misma región.

Estructura durante el entorpecimiento invernal.—Expondremos en primer término la estructura de las diferentes células nerviosas de los reptiles durante el sueño invernal, para después describir la que presentan en plena vigilia y en las fases de transición.

a) Médula espinal.—Decíamos en nuestra primera nota que en la médula del lagarto y lagartija presentábanse dos principales tipos celulares perfectamente deslindados: el *reticulado*, característico de las funiculares pequeñas y medianas, colocadas en su mayor parte en la substancia gris y asta posterior, y el *fasciculado*, propio de las motrices y funiculares grandes. Añadíamos á éstos un tercero, caracterizado por la presencia de la red perinuclear, el cual reside ya por delante ya entre las motrices; pero la observación de preparaciones todavía mejor impregnadas que las que dieron lugar á aquella nota, la aplicación de las nuevas modificaciones del método ideadas por nuestro maestro y, por último, el estudio de otros animales que, como la culebra, se prestan admirablemente para esta clase de estudios, nos han hecho concluir que en los reptiles se observan los tres mismos tipos celulares descritos por Cajal en los mamíferos y confirmados por nosotros en las aves: el fasciculado, el reticular y el intermedio ó retículo-fasciculado, siendo lo que llamábamos tipo de red perinuclear, una disposición común á todo el sistema nervioso, en todos los vertebrados y fácil de comprobar dentro de los tres tipos estructurales mencionados, como veremos más adelante.

(1) *F. Tello*: Sobre la existencia de neurofibrillas colosales en las neuronas de los reptiles. (*Trab. de lab. de inv. bio.*, fasc. 4.°, 28 Diciembre, 1903).

Tipo fasciculado. — Pertenecen á él, como acabamos de decir, las células motrices y funiculares grandes. Muchas de ellas corresponden, sobre todo examinadas en cortes transversales, á la siguiente descripción que dábamos entonces:

«Fusiformes, alargadas y tendidas oblícuamente de delante á atrás en el territorio del asta anterior, las células motrices emiten dos largas y robustas dendritas polares (á veces más), las cuales, según demostró Cajal, cruzan la substancia blanca, se dicotomizan varias veces y terminan en el plexo periférico ó submeníngeo.

Examinadas estas neuronas con el apocr. 1'30 sobre preparaciones ejecutadas con el método de nuestro maestro (nitrato de plata, 1'50, estufa tres ó cuatro días, reducción en ácido pirogálico, etc.), aparece todo el cuerpo celular surcado en dirección meridiana, es decir, de una á otra expansión polar, de unas fibras recias, coloreadas en marrón ó rojo-café, las cuales júntanse en ángulos muy agudos y se prolongan durante largos trayectos por las dendritas y axon. No todas estas fibras, que corresponden evidentemente á los *filamentos principales* de Cajal y á los hilos no anastomosados de Donagio, poseen el mismo grueso ni conservan igual diámetro durante su trayecto intracelular; en realidad, son más espesas en ciertos sitios que en otros, pero en ningún caso bajan de micra y media, pudiendo sobrepasar todavía esta cifra. Para darse cuenta del enorme volumen que supone la dimensión citada, recordaremos que las mediciones efectuadas por nosotros en los mamíferos (neurofibrillas principales de las células motrices) han dado diámetros inferiores á 0'1 de micra; por manera que, según evaluaciones aproximadas, el espesor de dichos filamentos en los reptiles, es por lo menos quince veces mayor que en el conejo, y cuenta que las neurofibrillas de este roedor son acaso las más gruesas de todos los mamíferos».

En otras células tan abundantes ó más que las anteriores, vénse dos grupos de neurofibrillas colosales: uno periférico con los mismos caracteres que acabamos de describir (fig. 4, *b*), y otro arrollado en forma de ovillo alrededor del núcleo, constituyendo una gruesa red perinuclear (figura 4, *a*). En cortes vertico-transversos que presentan las células seccionadas de través, apréciase un doble círculo de gruesos puntos, correspondientes á la sección de las neurofibrillas: uno concéntrico próximo al núcleo y otro excéntrico cercano á la periferia; también se ve alguno que otro en situación intermedia. Estos dos grupos se encuentran unidos, viéndose muy bien en los cortes frontales sobre todo, que el concéntrico está formado por hilos procedentes del periférico. Tanto estas células que ahora nos ocupan, como las primeras, siguen siendo fusiformes en los cortes frontales, pero ya se encuentra alguna que otra rectangular con

varias expansiones; en ellas se ve á los hilos producir verdaderos remolinos de direcciones variadas (fig. 4, *d*), marchando de unas expansiones á otras por los diferentes lados de la célula con corrientes dominantes para los arribados por cada expansión. La presencia en los cortes frontales de grupos de hilos cortados de través (fig. 4, *c*) ú oblícuamente, nos hizo sospechar que la forma de las células motoras no era completamente la supuesta; para averiguarlo hicimos una serie de cortes antero-poste-

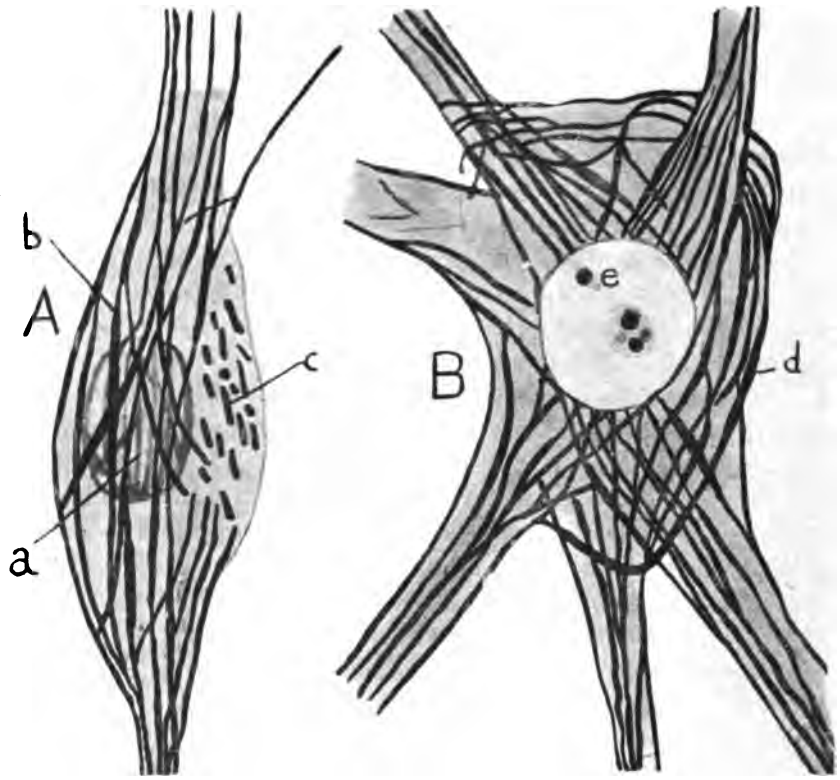


Fig. 4.—Grandes células motrices de la médula de lagarto invernante (corte frontal). —A, Célula fusiforme; B, Célula multipolar; *a*, Red perinuclear; *b*, engrosamiento de las neurofibrillas; *c*, Neurofibrillas cortadas de través ú oblícuamente; *d*, Neurofibrilla describiendo una gran revuelta; *e*, Cuerpo accesorio.

riores, procurando darles una ligera oblicuidad que permitiera comprender todas las células motrices en dos ó tres cortes; conseguido esto, vimos, en efecto, confirmada nuestra presunción, pues la mayor parte eran rectangulares, con el eje mayor antero-posterior, dos ó tres dendritas en cada extremidad ó lado menor, y algunas en los lados mayores, dirigidas de arriba á abajo, como formando una corriente medular vertical. Resul-

tan preparaciones sumamente hermosas, porque si bien el grosor de los hilos, teñidos selectivamente de un tono intenso que respeta el espongioplasma y el jugo celular, ya da á todas estas preparaciones de reptil invernante una claridad sin rival para el estudio; en los cortes antero-posteriores, como son sorprendidas las células motoras en todo su plano, resultan todavía mucho más demostrativas, viéndose llegar haces de neurofibrillas por las expansiones, esparcirse en abanico al penetrar en la célula, dirigirse por determinados puntos próximos al núcleo á las diferentes expansiones opuestas, y crear de esta manera un verdadero enrejado en el

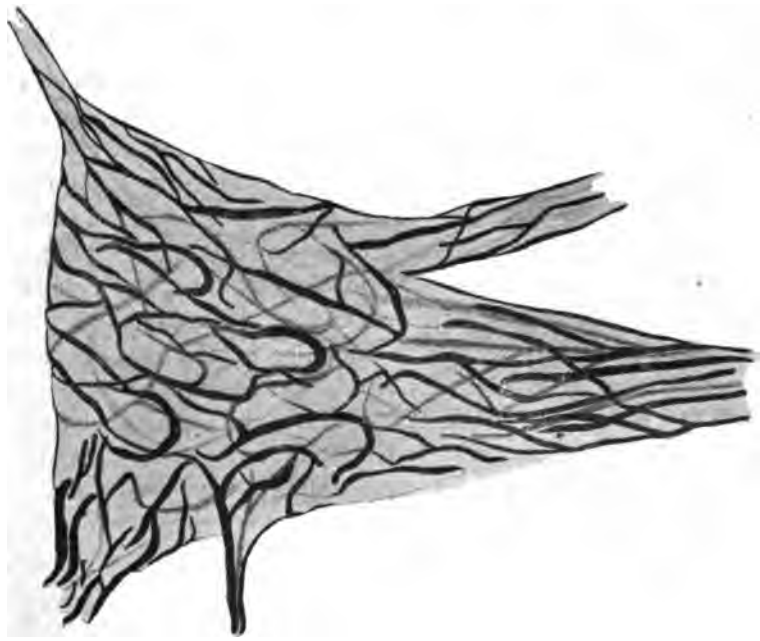


Fig. 5. — Célula motriz muy grande de la médula de culebra invernante.

que no se conserva la independencia de los hilos, que se anastomosan y dividen muchas veces formando redes de mallas muy anchas y largas.

En la culebra encuéntranse los mismos tipos descritos en el lagarto y lagartija; pero además tropiézase de trecho en trecho con células enormes (fig. 5), cuyas gigantes neurofibrillas describen tortuosas trayectorias, formando todavía más divisiones y anastomosis; esto las hace cambiar el aspecto fasciculado por el reticulado, á pesar de no poseer apenas hilos secundarios. Son aún más perceptibles en las motrices de la culebra las dendritas verticales, como haremos notar cuando describamos su aspecto en plena vigilia.

En todas las motrices descritas, los filamentos secundarios son tan escasos, que en algunas faltan por completo. Las funiculares grandes conservan, en parte, la disposición fasciculada, pero ya son tan abundantes los filamentos secundarios, que muchas veces vienen á ser un término medio entre las reticuladas y fasciculadas ; algunas, sin embargo, son evidentemente fasciculadas. Los filamentos secundarios extraordinariamente finos (de menos de dos décimas de micra), se tiñen con dificultad y se entrelazan con los principales, formando redes de largas mallas. Es frecuentísimo observar, tanto en estas funiculares grandes, como en todas las medianas y pequeñas de tipo reticular, hilos primarios gruesos, que parecen terminar por cabos adelgazados (fig. 7, *b*), que, observados con grandes aumentos (1'30 apocromático Zeiss), se descomponen en dos, tres ó más filamentos secundarios, como había demostrado Cajal en los mamíferos.

El axon de las motoras y funiculares grandes se origina por dos ó tres filamentos, procedentes del cuerpo celular, fundidos á poco en uno solo, que se adelgaza progresivamente, para recobrar de nuevo su grosor, inmediatamente después de la primera estrangulación.

En la fecha de nuestro primer trabajo, á la pregunta formulada, diciendo «las gruesas neurofibrillas ¿poseen una textura más fina?», contestábamos: «El examen con el 1'30 apocromático, ocular 12 Zeiss, sólo permite percibir una ligerísima granulación, que en algunos parajes quiere resolverse en retículo densísimo. A veces hemos creído notar cierta estriación longitudinal, aunque muy indecisa. De todos modos, los objetivos actuales no consienten (ni acaso consentirán durante muchos años, mientras no se fabriquen lentes más pepfeccionadas) resolver definitivamente la fina constitución de los filamentos primarios». Hoy, á pesar de los muchos más trabajos realizados, seguimos en la misma imposibilidad de contestar satisfactoriamente á aquella pregunta, pero la acción del calor, de un lado, resolviendo estas colosales fibras en otras extraordinariamente finas, la observación por otro, de aquellas fases intermedias (figs. 13, C, y 16, B) entre el estado invernal y de actividad en que las neurofibrillas se presentan cual cordones de red, como veremos más adelante, dan muchas probabilidades á nuestra suposición de que los cordones citados poseen una estructura reticular, pero de mallas tan alargadas y próximas que simulan hacecillos semifundidos.

Tipo reticulado.—Todas las células funiculares medianas y pequeñas presentan estructura reticulada y es posible en ellas hacer la separación de grupos semejantes á los descritos en la forma fasciculada, es decir: unas en que la red se extiende por toda la célula, sin separación de la perinuclear y la superficial, y otras en que se distinguen perfectamente,

debiendo advertir que, si bien unas y otras abundan entre las medianas, entre las pequeñas preponderan notablemente las de red perinuclear. Las primeras hállanse formadas por filamentos primarios, no tan gruesos como los de las células motrices y funiculares grandes, pero todavía bastante recios para el tamaño de estas células, y filamentos secundarios su-

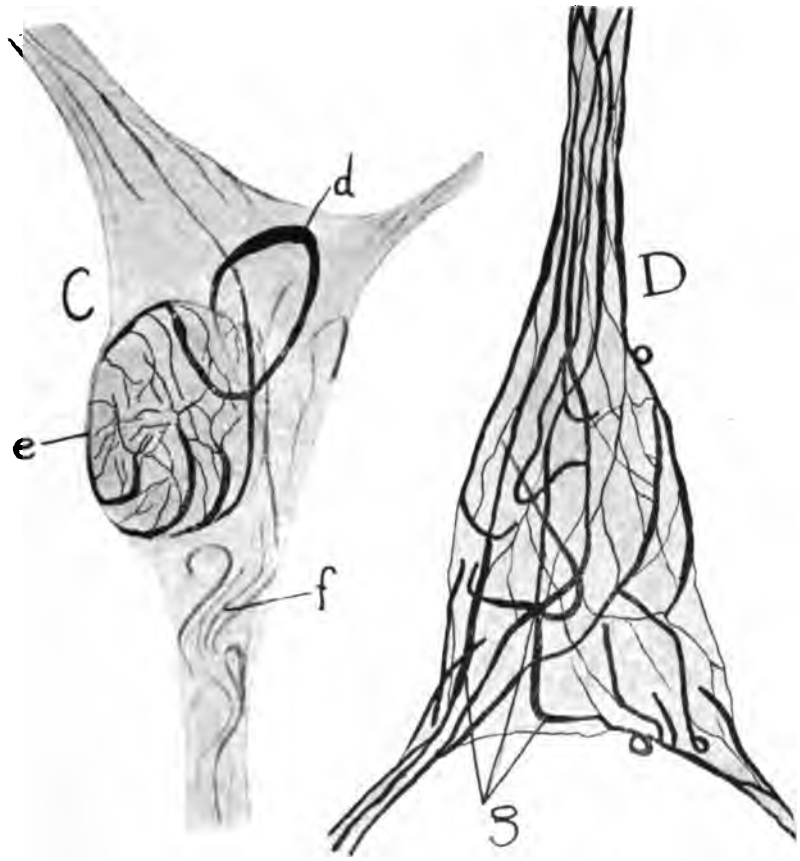


Fig. 6.—Funiculares medianas de la médula de lagarto invernante.—C, Funicular con red perinuclear; D, Funicular sin ella aparentemente; *d*, Gruesa neurofibrilla que describe una gran revuelta; *e*, Red perinuclear; *f*, Manojo de neurofibrillas paralelas de una expansión; *g*, Espesamientos neurofibrilares.

mamente finos que se extienden entre los primarios para formar las redes. Estas varían según el tamaño de las células, pues en las medianas, á las que pertenecen las dorsales medias de van Gehuchten perfectamente observadas con estos métodos, los hilos principales se dirigen de unas expansiones á otras, recordando el tipo fasciculado (fig. 6, D), pero trazan-

do numerosas revueltas y caprichosos giros, unas veces de gran radio, otras muy pequeño (fig. 6, *d*); en tanto que en las menores las revueltas son tan complicadas, que se pierde toda apariencia de fascículos (figura 7, B), mostrándose completamente reticuladas, de mallas amplias y de tres dimensiones, como todas las redes de que venimos tratando.

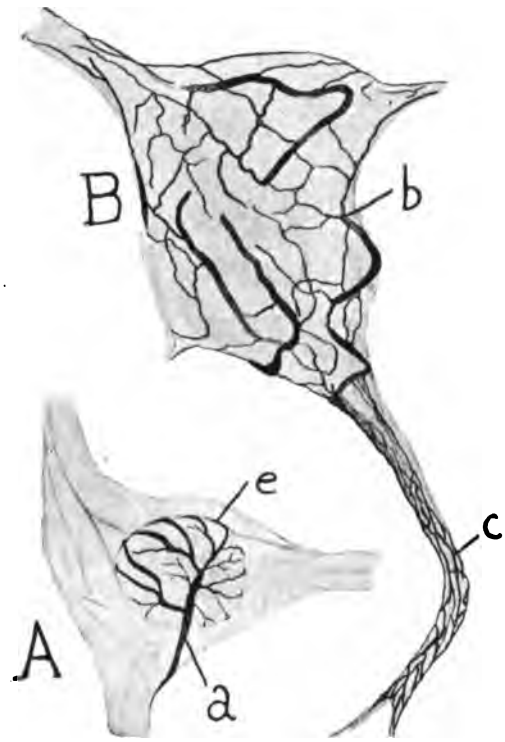


Fig. 7. — Funiculares pequeñas de la médula de lagarto invernante. — A, Funicular de red perinuclear; B, Funicular con red poco manifiesta; *a*, Fibra que se descompone para formar la red perinuclear; *b*, Filamento primario que se termina por tres secundarios; *c*, Expansión protoplásmica; *e*, Red perinuclear.

En las que ofrecen red perinuclear, ésta es notablemente manifiesta y apropiada para su estudio. Se forma generalmente de uno á tres ó más filamentos primarios, que, llegados á la superficie nuclear, se adaptan á ellas, descomponiéndose en multitud de ramitos, los cuales contornean el núcleo y simulan, como en las motrices perinucleares, cromosomas en la fase mitósica del ovillo. La figura 6, C, reproduce una funicular mediana y en ella se ven los cabos de estos ramos que, después de rodear al núcleo, se dirigen al otro extremo, formando una especie de campo antipolar; por el contrario, la figura 7, *a*, reproduce exactamente una funicular pequeña, en la que se puede ver á un filamento primario descomponerse para formar una preciosa red perinuclear. A completar estas redes contribuyen multitud de filamentos secundarios, finos en extremo.

Los hilos principales presentan en todas fuertes engrosamientos de trecho en trecho (fig. 6, *g*), pudiendo ver, como indicábamos, un hilo primario resolverse en dos ó más (fig. 7, *b*) secundarios. Por su gran refringencia, rigor de los contornos, numerosas revueltas y su modo de ramificación, semejan completamente estos hilos primarios á las fibras elásticas,

existiendo puntos (fig. 6, *f*) en que, por hallarse varios de estos hilos paralelos, la ilusión es perfecta.

Las dendritas hállanse formadas por mayor ó menor cantidad de filamentos primarios, según su grosor (fig. 6, D), y de hilos secundarios abundantes, constituyendo redes de mallas muy largas; sin embargo, es posible en algunas sorprender la disposición reticular, porque las mallas son más cortas, y buen ejemplo de ello es la representada en la figura 7, *c*, en la que se ve también salir hilos de la red para formar los ramos terminales, sin poder sorprender ninguno que pase directamente de uno á otro. En las que presentan clara red perinuclear, las dendritas están engendradas por hilos procedentes de ella y de la periférica, entremezclándose después de tal modo, que es imposible separar unos de otros. El axon, de la misma manera, está constituído por dos ó tres hilos de las dos redes, fundidos á poco en uno solo, que se estrecha en el principio de la vaina de mielina para recobrar de nuevo su diámetro.

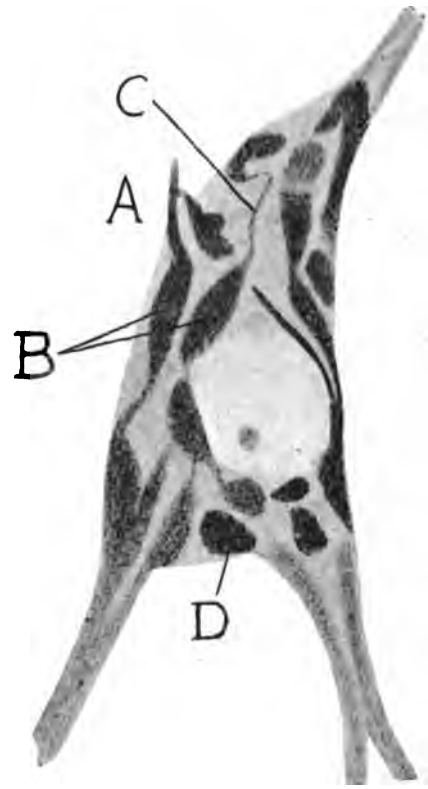


Fig. 8. — Célula que presenta extraordinariamente exagerada la disposición del lagarto invernante. — B, Enormes engrosamientos; C, Exagerados estrechamientos; D, Sección transversal de una neurofibrilla colosal.

Tanto entre las fasciculadas como en las reticuladas, es posible observar en cualquier corte de médula de reptil invernante que se examine, sobre todo en el lagarto, células en que la plata se depositó mal, pues que aparecen de color amarillo rojizo (fig. 8), cuyas fibrillas han triplicado ó más su diámetro al nivel de los engrosamientos normales (fig. 8, B), al paso que han quedado reducidas á tenues hilos á veces en los estrechamientos (fig. 8, C); los bordes están mal limitados, las dendritas aparecen constituídas por una ó dos de estas raras neurofibrillas, que se confunden á poco trecho, y el axon ofrece notablemente engrosados sus hilos de origen. Cuando las neurofibrillas son

numerosas, rellenan tan bien la célula, dado su grosor, que apenas es posible encontrar espacio alguno vacío. Al principio de nuestras indagaciones, supusimos que tomarían tal aspecto por defecto de impregnación, pero cuando el conocimiento de las mejores condiciones de aplicación de los métodos nos hizo obtener preparaciones perfectamente impregnadas, vimos que dicho aspecto era algo independiente de los métodos; esta misma constancia y el haber visto en nuestros trabajos, sobre las alteraciones patológicas de las neurofibrillas, que éstas presentan dificultad para teñirse cuando están alteradas, pero no esos extremos engrosamientos, y notar además las grandes analogías que presentaban en disposición, engrosamientos y estrecheces con las normales, nos ha hecho pen-

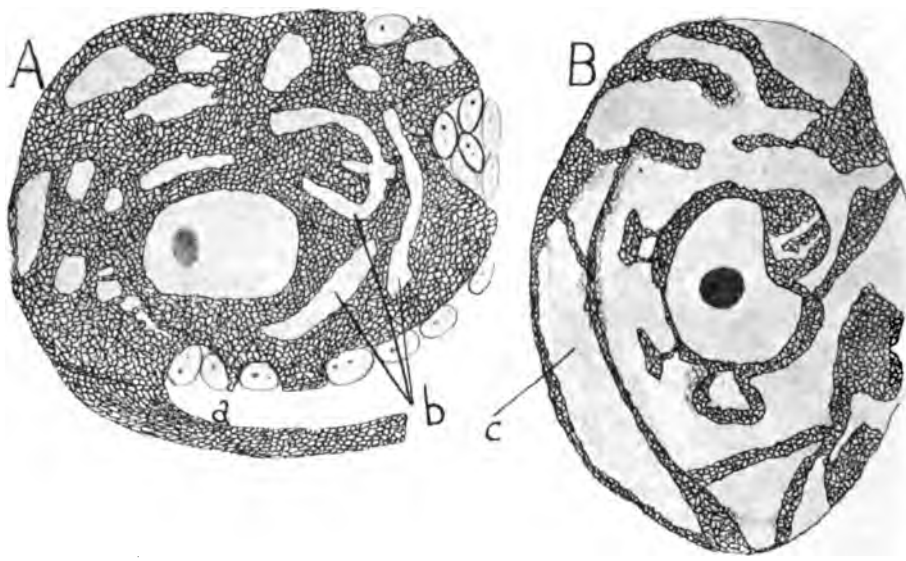


Fig. 9.—Células ganglionares raquídeas del lagarto invernante.—A, Célula con regular número de conductos; B, Célula con conductos muy dilatados; *a*, Origen del cilindro-eje; *b*, Conductos; *c*, Conducto muy dilatado.

sar que no debe ser nada patológico, sino una exageración de un estado fisiológico, bien por excesiva inactividad, mucho frío ó por otras causas desconocidas.

Ganglios raquídeos. — Reproducen estructura análoga á la retículo-ganglionar de las aves; sin embargo, es posible distinguir las células en dos grupos: en el primero (fig. 9) se encuentran las más grandes por regla general; sus neurofibrillas, muy finas, se disponen en redes de mallas poligonales, algo alargadas en el origen del axon, que ofrece la misma estructura (fig. 9, *a*). Lo más característico de estas células es hallarse

atravesadas en todos los sentidos por gran número de espacios vacíos en forma de tubos anastomosados (fig. 9, *b* y *c*), y de los que en muchas ocasiones se ve la luz por estar seccionados de través. El número y grosor de estos tubos varía extraordinariamente desde no encontrar casi ninguno, hecho raro, hasta ser tantos y tan gruesos que rellenan materialmente la célula (fig. 9, B), rechazando la red de neurofibrillas, ya sólo visible en algunos tabiques. La mayoría pertenecen á un término medio, representado en la figura 9, A. El segundo grupo está caracterizado por el mayor grosor de los hilos y las mayores dimensiones de la red, acercándose más que las anteriores á la disposición de las células ganglionares de los mamíferos y aves (fig. 10); no presentan los espacios vacíos del primer grupo y podemos dividirlas en dos clases: una, con los hilos sin orientación dominante (fig. 10, C), y otra, en que los hilos se dirigen casi todos desde

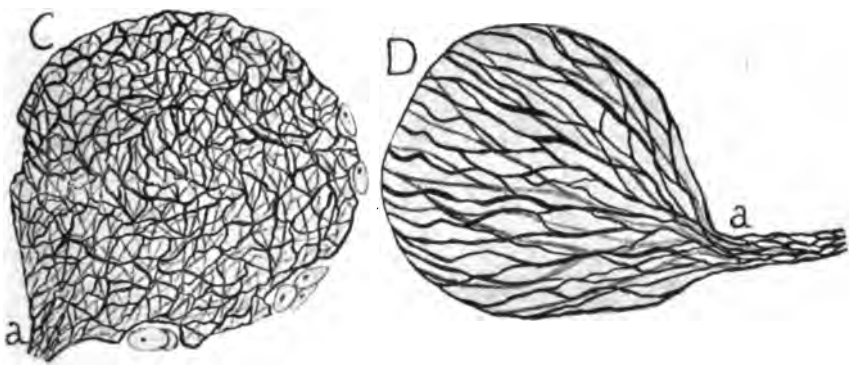


Fig. 10.—Células ganglionares raquídeas de lagarto invernante.—C, Célula con los hilos sin orientación dominante; D, Célula con orientación; *a*, Origen del axon.

el origen del axon al otro extremo de la célula (fig. 10, D). Desde luego, nos pareció que los conductos hallados en las células primeras correspondían á los descritos por Holmgren (1) en los batracios y peces, pero el no haber trabajado con otros métodos, nos impide decidirnos en este sentido, aunque nos parece muy verosímil. De todos modos sus analogías con los senos de dicho autor son grandes, aunque el proceder empleado no nos ha permitido comprobar cubierta de ninguna clase y las modificaciones que presentan, coincidiendo con las fisiológicas, no sólo no concuerdan con las observadas por dicho autor, sino que las contradicen, como veremos luego; así es que habremos de aguardar á que alguna

(1) *Emil. Holmgren*: Studien in der Feineren Anatomie der Nervezenllen. *Bonnet Merkels anatomischen Heften*. Bd. 15-1900.

modificación del proceder nos permita apreciar bien estos conductos ó la aplicación de métodos complementarios contribuya á esclarecer su naturaleza.

Las células encuéntranse rodeadas por una fila de núcleos, acumulados sobre todo, en algunas depresiones que presentan, correspondientes á los elementos endoteliales que forman la cápsula. El axon no presenta glomérulo inicial, describiendo solamente algunas inflexiones para adaptarse á los huecos existentes entre las células. De estructura francamente reticulada en su origen (fig. 9, *a*), funde á poco (al menos ópticamente) sus hilos, de modo que cuando más es posible apreciar una textura fibrilar ó granulosa.

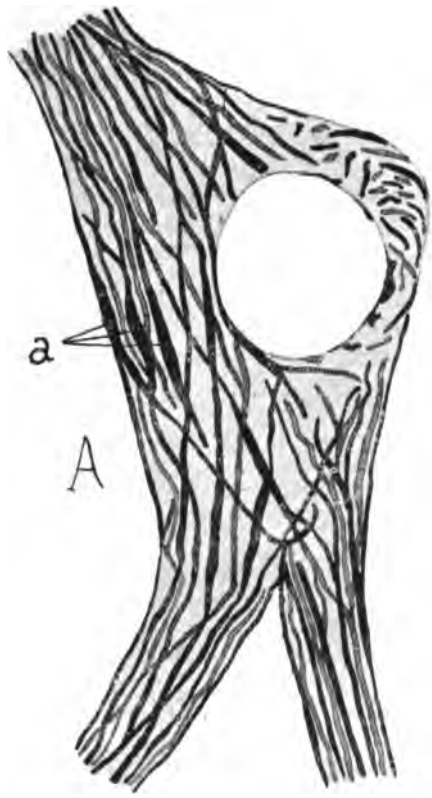


Fig. 11. — Célula intersticial enorme del bulbo de lagarto invernante. — *a*, Engrosamientos de las fibras.

Otros centros nerviosos. — En el bulbo raquídeo obsérvanse los mismos tipos estructurales descritos en la médula, por lo que apenas hemos de mencionarlos. El fasciculado ha desaparecido casi por completo, perteneciendo la inmensa mayoría de las células al retículo-fasciculado, debiendo advertir que aquí, como en la médula, la red perinuclear se presenta admirablemente diferenciada en la mayor parte de las células, tanto motoras como sensitivas. Son dignas de mención especial unas células intersticiales muy grandes, mayores que las motoras de la médula, y que constituyen un terreno muy apropiado para el estudio de las variaciones estructurales fisiológicas (fig. 11). También hemos hallado un grupo de células bipolares que nos parece corresponder, por su situación y relaciones, al formado por las intersticiales ó gangliónicas del nervio auditivo en las aves; pero este asunto merece mayor estudio.

En el cerebro medio y entrecerebro hemos observado casi los mismos núcleos que en las aves, y su estructura corresponde á la retículo-fascicu-

lada, con hermoso retículo perinuclear. Merecen descripción aparte las células del núcleo accesorio del masticador, en las que el gran espesor adquirido por los numerosos hilos que poseen, las hace aparecer completamente rellenas, siendo, por esta razón, muy difícil determinar cuál sea su disposición; son monopolares y se encuentran, como en los mamíferos y aves, hasta al nivel de los tubérculos cuadrigéminos anteriores. Otros núcleos donde con más claridad se presenta el retículo perinuclear son los motores oculares común é interno, en cuyas células los filamentos primarios, á causa de su engrosamiento y casi desaparición de los secundarios, forman hermosos torbellinos alrededor del núcleo.

Estructura de las células de los reptiles durante las estaciones calurosas. — Todo cuanto llevamos expuesto de los reptiles lo habíamos obtenido durante el sueño invernal, y era considerado por nosotros como disposición general en estos animales. Ya el hallazgo en la médula y bulbo de conejo normal de células que presentaban engrosamientos fusiformes de difícil interpretación, y el aspecto análogo al de los reptiles ofrecido por las células de varios centros nerviosos del conejo rabioso (1), habían conducido á nuestro maestro á la suposición de que el retículo era susceptible de experimentar cambios morfológicos. Nuestra observación simultánea de células con un retículo un poco más grueso que el de los mamíferos, en un lagarto accidentalmente excitado por la sección de la cola en su raíz, robusteció esta suposición é hizo pensar á Cajal (2) «que la hipertrofia de las neurofibrillas de los reptiles constituía un fenómeno morfológico secundario, debido á la acción del frío y al consiguiente entorpecimiento de los reflejos medulares. En nuestro sentir, dicho estado hipertrófico del armazón desaparecería al arribo de la primavera». Hecha la observación en los primeros días de febrero, mientras llegaba aquélla, obligamos á salir de su letargo á un lagarto, sometiéndole, durante veinticuatro horas, en una estufa de temperatura constante á 37°, y tuvimos la suerte de comprobar completamente la suposición de nuestro maestro, pues que el aspecto de las neurofibrillas era en absoluto distinto. Desde entonces hasta la primavera hemos repetido una porción de veces la experiencia, modificando constantemente alguna de sus condiciones, y obteniendo siempre idénticos resultados. A la media hora de estancia en la estufa recobra completamente la actividad de sus movimientos, pero todavía presenta gruesas neurofibrillas, siendo necesaria una permanencia de dos ó tres horas en adelante, según el animal, para que la transformación se haya verificado ó esté en fase intermedia.

(1) *Cajal:* Variaciones normales y patológicas del retículo neurofibrilar. *Trab. del lab. de inves bio.*, Tomo III, fasc. 1.°

(2) *Cajal: Loc. cit.*

La temperatura la hemos hecho descender hasta 25°, y aun menos, obteniendo resultados positivos cuando ésta era suficiente á sacar al animal de su letargo. También hemos tratado de sustituir la acción del calor con otros excitantes, como movimientos continuados, acción de la electricidad, etc., pero en todos estos casos no se producen sino excitaciones de mediana intensidad, que no son capaces de producir la transformación.

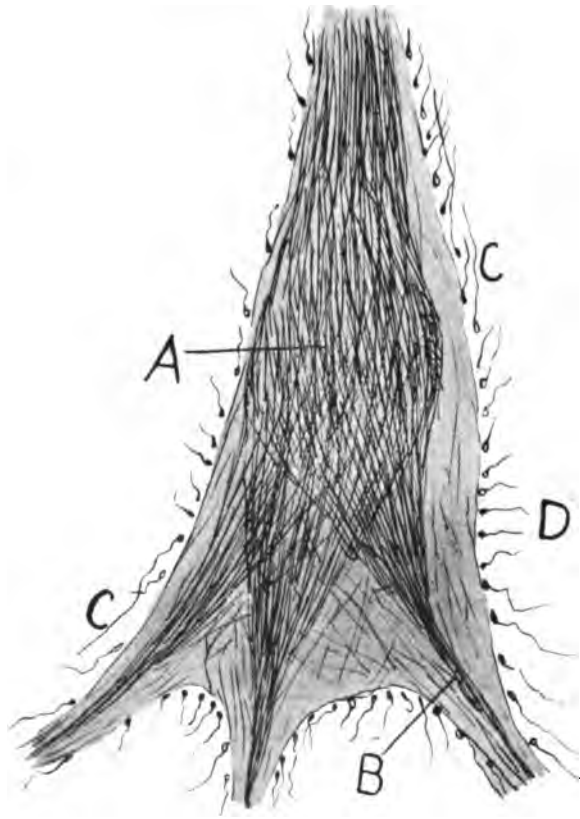


Fig. 12. — Célula motriz de la médula del lagarto activo. — A, Red perinuclear; B, Grupo de neurofibrillas que llega por el eje de una expansión; C, Fibrillas terminales paralelas á la superficie celular con sus mazas de Auerbach; D, Fibrillas perpendiculares.

A la llegada de la primavera, en cuanto los reptiles se han encontrado en plena vigilia, hemos vuelto á rehacer nuestras experiencias, encontrando tan diferente la disposición estructural en los dos estados, que por la sola observación de un corte de cualquier centro nervioso podríase fácilmente decir en qué época del año había sido muerto. Hemos repetido los experimentos en el lagarto, lagartija y culebra, debiendo advertir

que, así como en el invierno las mejores preparaciones las obtuvimos con el lagarto, en la primavera nos las ha proporcionado la culebra.

Médula espinal.—Si notables eran las diferencias de las motrices y funiculares grandes con las funiculares medianas y pequeñas en el lagarto invernante, mucho más lo son en el lagarto activo; basta dirigir una ojeada sobre las figuras 12 y 13 para apreciar de una vez, y mejor que pudiera hacerse por la descripción más acabada, las diferencias entre los diferentes grupos.

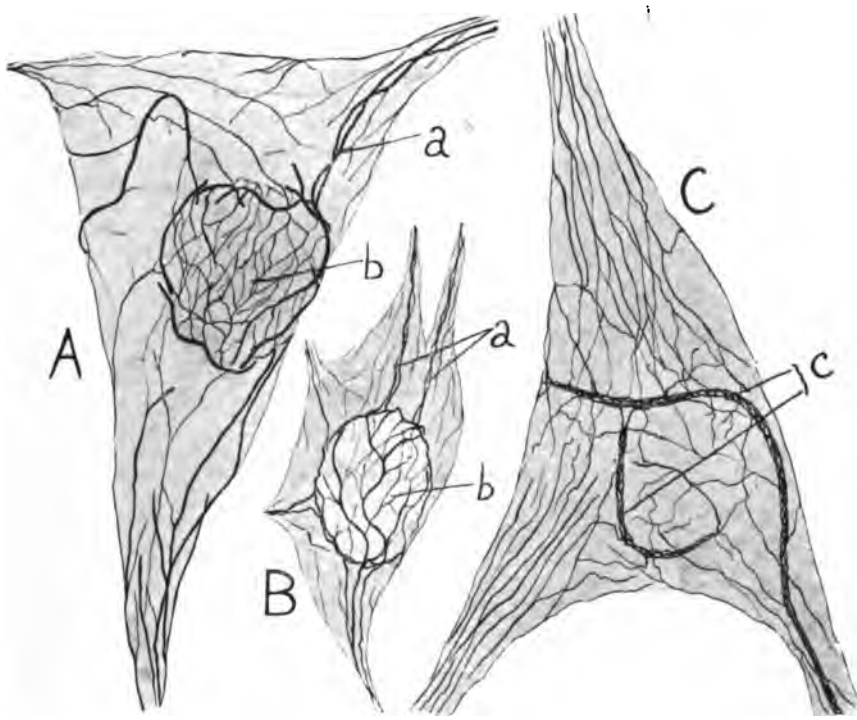


Fig. 13. — Funiculares medianas y pequeñas de la médula de lagarto activo. — A, Funicular mediana con red perinuclear; B, Funicular pequeña con red perinuclear; C, Funicular mediana que exhibe los dos hilos C en fase de transición; *a*, Neurofibrillas que van á la red perinuclear; *b*, Red perinuclear.

Las motrices y funiculares grandes (fig. 12) han cambiado sus gruesos hilos por una innumerable cantidad de neurofibrillas que apenas se pueden individualizar y que son quizás las más finas que conocemos; penetran formando un grueso manojo por el eje de las expansiones (figura 12, B), abriéndose después en abanico para abrazar al núcleo y dirigirse á otras expansiones, y constituyendo una espesísima red perinuclear (fig. 12, A) y otra periférica extraordinariamente más pobre en hilos.

Claro es que el gran número de neurofibrillas hace que su estructura, como venimos observando en todas las expansiones, más que reticular parezca fibrilar, pero creemos haber advertido antes de ahora que estos lugares de gran complejidad son los menos á propósito para tales estudios de textura. Las funiculares medianas y pequeñas (fig. 13) tienen también sus hilos mucho más finos, pero es de notar que han invertido su relación de espesor con los de las motoras, pues mientras en el sueño invernal sus neurofibrillas eran la mitad ó la tercera parte de los de éstas, llegadas á la fase de actividad son dobles ó aun más y con parecidas dimensiones, á las de los mamíferos.

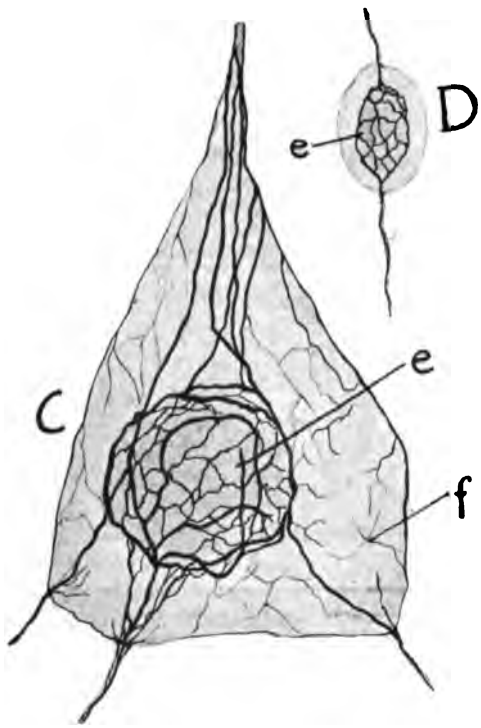


Fig. 14. — Funiculares mediana y pequeña de la médula de culebra en primavera.— C, Mediana; D, Pequeña; *e*, Red perinuclear; *f*, Red periférica.

Los hilos conservan su aspecto tortuoso, aunque en menor grado, y distínguese con mucha claridad el retículo perinuclear (fig. 13, *b*), tanto más, cuanto más diminuta es la célula, de tal modo que en las más pequeñas sólo se distingue un fino retículo perinuclear, engendrado por una neurofibrilla llegada por cada expansión (fig. 14, D).

En la culebra observamos hechos análogos respecto á las funiculares medianas y pequeñas (fig. 14), pero son notablemente diferentes los caracteres de las motrices y funiculares grandes. Las neurofibrillas son sin disputa las más gruesas del estado de actividad, aunque siempre más finas que en el invernante, y se disponen en tabiques que circunscriben espacios destinados probablemente á los husos cromáticos (fig. 15, *a*); en aquellos puntos en que el espacio destinado á las neurofibrillas es más amplio, se disponen éstas en bonitas redes, con muchos hilos secundarios (fig. 15, *b*), demostrándose una vez más que allí donde es posible, se manifiesta siempre la estructura reticulada. Otro carácter curioso es afectar formas aplanadas con el plano-sagital como sucede en los lagartos, con

la particularidad de sólo presentar cada célula una ó dos expansiones dirigidas de delante á atrás; las demás parten de la célula, unas verticalmente desde luego, y otras primero oblícuamente sobre el horizonte, para incurvarse después y hacerse francamente verticales, constituyendo á modo de una larga comisura á todo lo largo de la médula. Las expansiones verticales son extraordinariamente gruesas y constan de multitud de hilos primarios, dispuestos paralelamente, formando ondas que le dan

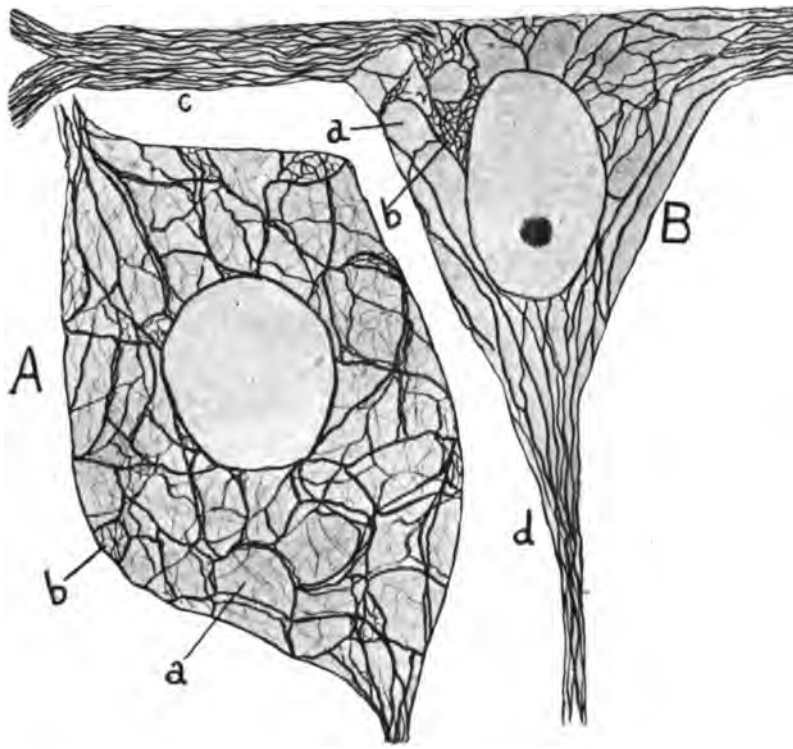


Fig. 15. — Motrices de la médula de culebra en primavera. — A, En corte frontal; B, En corte antero-posterior; *a*, Espacios de los husos de Nilss; *b*, Espacios entre los husos donde se ve bien el retículo; *c*, Expansión protoplásmica ascendente; *d*, Expansión protoplásmica antero-posterior.

un aspecto característico (fig. 15, *c*). En la fig. 15, A, dibujamos una célula multipolar de seis expansiones, que no presentaba en el corte horizontal más que dos, estando las demás orientadas de arriba á abajo, y en la fig. 15, B, reproducimos una triangular de un corte vertical para apreciar los detalles que describimos en las dos expansiones verticales.

En los demás centros nerviosos, la transformación es análoga á la sufrida por los corpúsculos de la médula; las grandes células del bulbo

(fig. 11), de estructura análoga á las motrices de la médula, siguen pareciéndose á ellas, después de la transformación (fig. 16, C); la inmensa mayoría, que dijimos corresponder al tipo retículo-fasciculado, continúan idénticas á las funiculares medianas (fig. 13, A); y una gran cantidad de células pequeñas, repartidas por los centros nerviosos, siguen iguales á las diminutas de la médula (figs. 13, B, y 14, D). Aprécianse también las neurofibrillas en las células más grandes del lóbulo óptico, núcleos

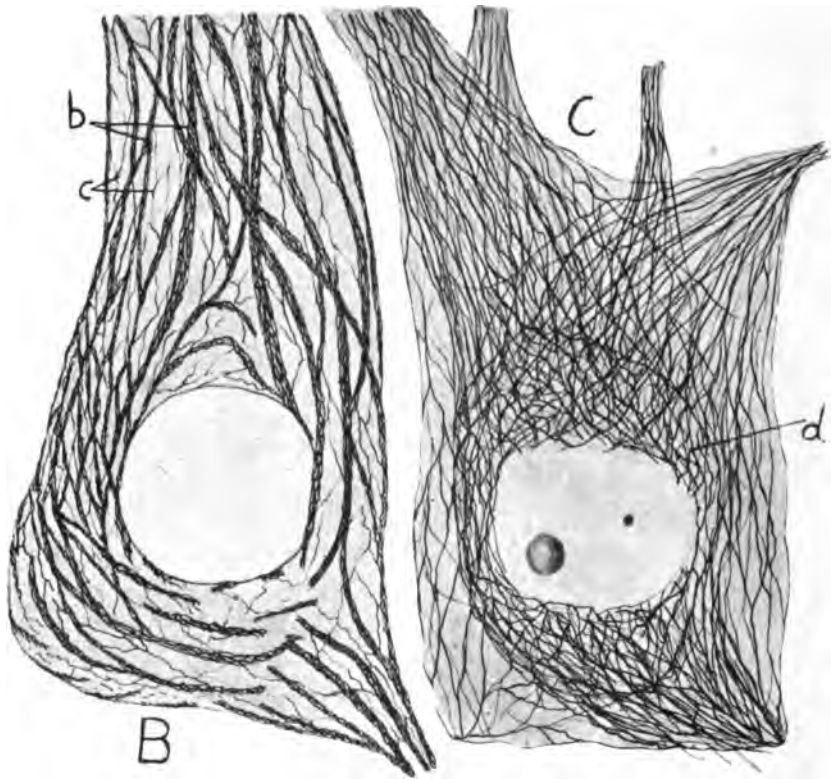


Fig. 16. — B, Célula intersticial de bulbo de lagarto en estado intermedio; C, Célula en primavera; *b*, Hilos gruesos desdoblándose; *c*, Hilos ya sueltos; *d*, Red perinuclear.

cerebrales, etc. El adelgazamiento de las neurofibrillas del núcleo accesorio del masticador, permite ver que son de estructura retículo-ganglionar en el lagarto, con redes perinuclear y periférica. En la culebra, distínguense en este núcleo dos tipos celulares: células correspondientes á las del lagarto; y otras, tan numerosas ó más que las anteriores, caracterizadas por tener la red periférica formada de gruesos hilos, dirigidos desde el origen del axon al otro extremo del soma, análogamente á lo

que sucede en ciertas ganglionares raquídeas del lagarto invernante (fig. 10, D), si bien más tortuosos, dejando entre las revueltas de unos y otros claros circulares. Es tan regular su orientación, que en las células cortadas perpendicularmente á su eje mayor ó en dirección ecuatorial se encuentran todos los hilos seccionados de través, sin que se vea uno solo á lo largo. La red perinuclear es más fina y extraordinariamente densa. El axon se forma con hilos de las dos.

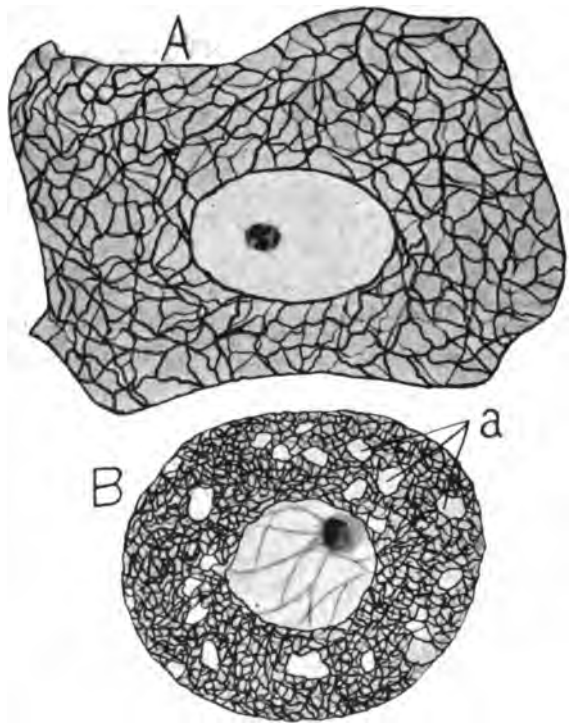


Fig. 17. — Células ganglionares raquídeas de lagarto en primavera. — A, De red amplia; B, De red fina; *a*, Sección transversal de los conductos.

En las células de los ganglios raquídeos, los múltiples tipos descritos en las invernantes han quedado reducidos á dos: uno en el que las redes conservan el aspecto fino de aquéllas (fig. 17, B); y otro, el más abundante, en el que las redes se han hecho más laxas, siendo mucho mayor su parecido con las de los mamíferos y aves (fig. 17, A). El cambio más notable, surgido en estas células por la influencia del calor, es el estrechamiento y disminución en número de los conductos, observados en el invierno (fig. 17, *a*); y precisamente este hecho es uno de los que más nos

han hecho dudar para su interpretación. Hemos dicho que su aspecto nos hizo creer al pronto que se trataba de los conductos descritos por Holmgren (1), pues aunque no habíamos encontrado cubierta propia, lo atribuímos á deficiencias del método; Holmgren afirma que aquella es más ó menos visible, según el grado de dilatación de los conductos, y según el método empleado para ponerlos de manifiesto. Pero de sus trabajos en ganglios, cuyos nervios había excitado mediante una corriente eléctrica continua, ha deducido que los conductos se hacen mucho más gruesos y de paredes más visibles en los ganglios excitados, precisamente lo contrario de lo hallado por nosotros; claro es que se ha valido de un estímulo hasta cierto punto artificial, mientras que nosotros hemos empleado un excitante eminentemente fisiológico, lo cual pudiera dar lugar á diferencias en los resultados. Además, las imágenes obtenidas por nosotros de los citados conductos, pudiéramos decir que son negativas, puesto que destacan sobre la coloración del fondo, y con tanta más claridad, cuanto más impregnadas están las neurofibrillas, en tanto que en los puntos, en que han sido impregnadas por nuestro maestro (células piramidales del cerebro del conejo adulto, células ganglionares y epiteliales del lumbricus, etc.), ha obtenido imágenes positivas, resultando los conductos teñidos de café ó rojo pardo sobre un fondo amarillento mucho más claro. Por todas estas razones, es muy posible que más que de conductos de Holmgren ú otros análogos, se trate de un cambio semejante al ocurrido en el restante sistema nervioso, ó sea emigración de las neurofibrillas á determinados lugares para formar gruesos hilos resultantes de su aglutinación, dejando grandes espacios claros sin neurofibrillas; acaso por la naturaleza de las redes, de un lado, y por la necesidad de cierta actividad constante en estas células, tan importantes para los reflejos, el proceso de la conglutinacion no ha pasado nunca de este estado intermedio, tomando los espacios sin redes la forma de senos.

Tanto en los reptiles invernantes como en los activos, hemos logrado teñir numerosas neurofibrillas terminales con sus mazas de Auerbach (fig. 12, C y D), sin que experimenten cambios de ninguna clase de uno á otro estado.

La transformación no se verifica de repente, sino que requiere cierto tiempo, durante el cual se pueden sorprender algunas células en fases de transición; de éstas las más notables son las grandes células bulbares indicadas anteriormente (fig. 16, B): á las gruesas neurofibrillas invernales suceden verdaderos cordones reticulares (fig. 16, *b*) con alguna que otra fibrilla suelta (fig. 16, *c*), de las que constituyen el estado activo (fig. 16, C). En la figura 13, *c*, dibujamos una funicular mediana de la

(1) *Holmgren: Loc. cit.*

médula que, entre sus neurofibrillas, casi todas en período de actividad, se mantienen aún dos de estos cordones de transición. La transformación no se verifica á la vez en todas las células de un núcleo, siendo posible encontrarlas en dos fases próximas según la época, y en ocasiones en tres. Tampoco tiene lugar al mismo tiempo en todo el sistema nervioso, aunque por nuestros escasos trabajos sobre este punto, no estemos en disposición de exponer el orden en que se va verificando en los diferentes núcleos; sin embargo, nos ha parecido realizarse con más rapidez en el bulbo y regiones más altas que en la médula.

Vemos, pues, que el proceso esencial para que el retículo pase á la fase de reposo invernal, es su aclaramiento progresivo, haciéndose cada vez de mallas más anchas, merced á la emigración de la substancia neurofibrilar á determinados lugares, para constituir gruesas neurofibrillas con sus engrosamientos descritos; compárense las figs. 11 y 16, que representan grandes células intersticiales en las tres fases, para apreciar con claridad meridiana lo que acabamos de decir. ¿Cómo se verifica esta emigración? Dos son las hipótesis expresadas por nuestro maestro: ó la emigración sigue la longitud de las neurofibrillas hasta las más gruesas, persistiendo aquellas que pueden adelgazar lo bastante y rompiéndose las demás para contribuir á formar los hilos primarios con toda su substancia, ó esta emigración tiene lugar en sentido transversal, adosándose por su superficie gran cantidad de neurofibrillas, fundiéndose después (al menos ópticamente) para formar las colosales, que no son más que conglomerados de redes. Ambas tienen algún hecho en su apoyo, y así los grandes engrosamientos vistos por nuestro maestro en el conejo rabioso y por nosotros en los reptiles invernantes, parecen venir en pro de la primera, en tanto que las fases de transición observadas por nosotros dan más verosimilitud á la segunda, que nos parece la más aceptable. Quizás la fusión de las redes no se verifique por completo, y á esto sea debido el aspecto reticular que creímos percibir en las colosales neurofibrillas invernales, pero no son suficientes las observaciones realizadas para juzgar definitivamante estos asuntos, que dejan ancho campo á la investigación, dado que lo único adquirido con certeza hasta el momento actual, merced á los trabajos de Cajal y los nuestros, es la variabilidad del retículo patológicamente, y con la actividad y reposo fisiológicos.

En todo tiempo preséntanse bien teñidos los nucleolos, formados, como en los mamíferos y aves, por gran número de esferitas que atraen con desigualdad el nitrato de plata (fig. 4, B), y se aprecia con mucha frecuencia el *cuerpo accesorio* (fig. 4, *e*). También aparecen de cuando en cuando redes formadas indudablemente por precipitados albuminoideos, debidos á la acción del nitrato de plata (figs. 1, C, y 17, B).

BATRACIOS

Hemos de ser excesivamente breves en su descripción, pues de otro modo no haríamos más que repetir cuanto llevamos dicho de los reptiles en actividad. Por otro lado, nuestras observaciones, recaídas casi exclusivamente en la rana común y de San Antonio, no nos permiten un estudio todo lo completo que debe ser, y que haremos tan pronto como las circunstancias nos lo consientan.

Las células motrices y funiculares grandes (fig. 18) son fasciculadas, y la gran complicación de sus hilos no permiten ver bien si presentan los

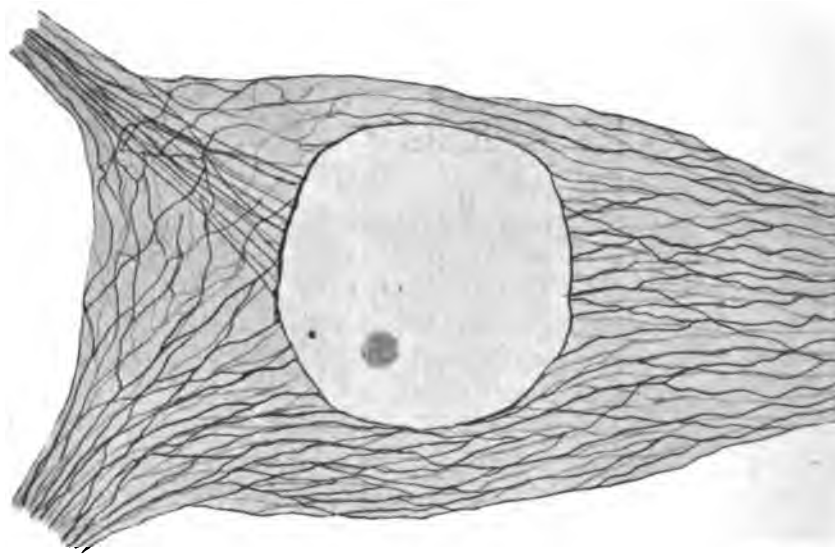


Fig. 18. — Célula motriz de médula de rana.

dos retículos; sin embargo, en células seccionadas transversalmente hemos creído observar un cúmulo mayor de hilos alrededor del núcleo. Por su estructura son muy semejantes á las del lagarto, si bien no presentan la concentración perinuclear; los filamentos primarios son más gruesos que en dicho animal en actividad y algo más finos que los de la culebra, y se presentan también hilos secundarios muy poco perceptibles; en muchos puntos se ve á los filamentos primarios dar alguno que otro hilo secundario, mientras que se dividen varias veces formando red. Las gruesas expansiones protoplásmicas están constituídas por innumerables neurofibrillas onduladas, de aspecto semejante al de las expansiones ver-

ticales de las motrices de la culebra en actividad (fig. 15, c); en algunas es fácil ver un manojo de fibras que se dirige al núcleo. El axon engendrado por varios filamentos pierde sus fibrillas al nivel de la primera estrangulación.

Las células funiculares medianas presentan una estructura variable; las mayores son análogas á las anteriores, si bien con menor cantidad de hilos; á medida que aquellas disminuyen de tamaño éstos son menos numerosos, y al llegar al cuerpo celular se disponen en red perinuclear, lo mismo que en las funiculares pequeñas.

En los demás núcleos bulbares, protuberanciales, pedunculares, cerebrales, etc., la estructura de las células es análoga á la descrita en los reptiles activos. Los ganglios raquídeos ofrecen textura *reticulo-ganglionar*, análoga también á la de los reptiles, pero no hemos podido sorprender en ninguna célula los conductos allí descritos, correspondiendo, por consiguiente, á las representadas en la fig. 17, A, aunque de mallas más estrechas, por una ligera retracción de la célula.

Un hecho muy curioso es la insistencia con que en estos animales se tiñe el núcleo de todas las células, formado por multitud de esferitas de diferentes tamaños, más abundantes en las células grandes que en las pequeñas, entre las que destaca el nucleolo, formado á su vez por un conglomerado de ellas, reunidas por un cemento de color más pálido.

PECES

La falta de material apropiado nos ha impedido estudiar suficientemente estos animales. Aguardemos, pues, á que el material necesario nos permita analizarlos de un modo completo.

De todos modos hemos coloreado, aunque con alguna palidez, las neurofibrillas en la médula y bulbo de la raya y torpedo. Los mejores preparados han sido obtenidos en el lóbulo eléctrico de éste, donde habían sido mencionadas por algunos autores, singularmente por Bethe (1) y por Studnicka (2).

Como se aprecia en las figs. 19 y 20, las células nerviosas de dicho lóbulo poseen un retículo muy complicado. Inmediatamente por debajo de la membrana yace una densa capa de filamentos primarios bastante gruesos, dispuestos en haces paralelos y plexiformes, los cuales, sin abandonar al parecer la región limitante, pasan de una dendrita á otra

(1) *Bethe:* Ueber die Neurofibrillen in der Ganglienzellen von Wirbelthieren. *Arch. f. mikros. Anat.* Bd. BL. 1900.

(2) *F. K. Studnicka:* Beitrage zur Kenntniss der Ganglienzellen, &. *Sitzungeber. der königl. böhm. Gesellsch. der Wissenschaften*, in Prag. 1901.

(figura 19, *b*). Viene después una zona concéntrica, submarginal, delgada, que se colorea menos intensamente por la plata (fig. 19, *f*), y en la cual se descubren, con un buen objetivo, redes complejas compuestas por filamentos finos, pálidos, parcialmente espesados, y circunscribiendo mallas poligonales. La comparación de estos preparados con los obtenidos mediante el método de Nissl, enseña que en dicha zona residen de preferencia los grumos cromáticos, bien estudiados y dibujados por Studnicka. Sigue luego cierta zona fibrilar de espesor desigual (fig. 19, *c*), constituída por haces densos, concéntricos, que se extiende por una gran

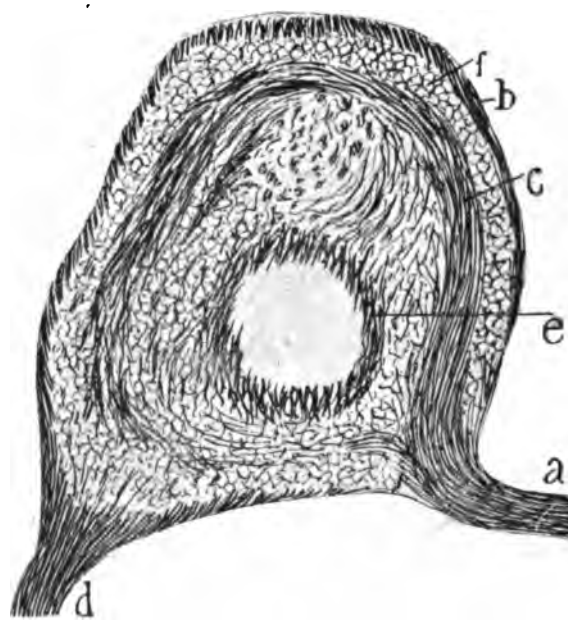


Fig. 19. — Corte ecuatorial de una célula del lóbulo eléctrico del encéfalo del torpedo. Fórmula 1.ª Nitrato al 3 por 100. — *a*, axon ; *b*, capa de fibras superficiales; *c*, capa de fibras de donde brota el axon ; *e*, zona fibrilar perinuclear ; *d*, dendrita.

parte del protoplasma. Casi siempre esta capa fibrilar posee interrupciones; á menudo, sus haces se doblan y pasan á ciertos parajes profundos, trazando espirales y remolinos, ya vistos por los autores y singularmente por Studnicka. Al nivel de dicha zona faltan ó son escasos los grumos de Nissl. Pero lo más interesante de ella es que, llegadas sus fibras á un ángulo del soma (fig. 19, *a*), adquieren gran palidez y notable finura (generalmente aparecen más rojas y claras que el resto del retículo) y engendran el contingente principal de las fibras del axon. Los cortes algo tangenciales (fig. 19, *a*) revelan los remolinos que los haces de se-

mejante capa describen, así como la complicación de sus derivaciones profundas. Por debajo de la susodicha masa fibrilar, hállase un estrato espeso, irregular, surcado de haces desorientados y constituído preferentemente por un retículo semejante al de la zona segunda. Y finalmente, en torno del núcleo, obsérvase una cápsula obscura compuesta de filamentos primarios gruesos, dispuestos en plexo denso, que recuerda por completo el emplazado bajo la membrana celular (fig. 19, *e*).

Tal es la disposición del armazón neurofibrilar en la mayoría de las neuronas de los torpedos grandes (*torpedo marmorata*); pero existen otras disposiciones irregulares y más complicadas, que no podemos puntualizar aquí.

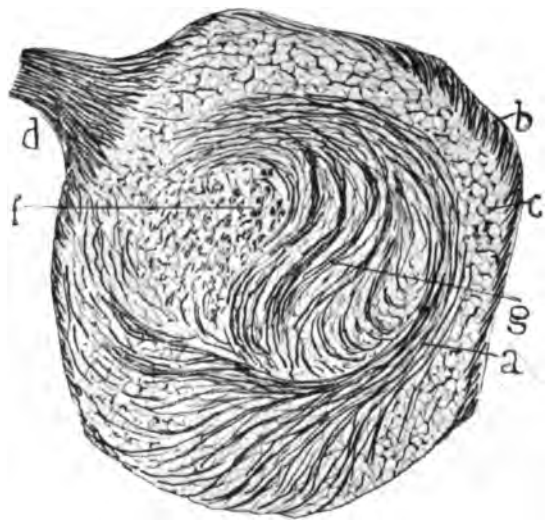


Fig. 20. — Otra célula del órgano eléctrico del cerebro del torpedo. Corte tangencial. —*a*, zona de fibras concéntricas de donde brota el axon; *b*, capa de fibras superficiales; *c*, red cortical; *g*, fibras en remolino; *d*, dendrita.

Todas las neurofibrillas de las células que acabamos de describir, nos parecen anastomosadas por lo menos en el cuerpo protoplásmico. Dentro de las dendritas y axon, que pueden seguirse fácilmente hasta su terminación, sólo se percibe un haz denso de hilos pardos, pero tan apretados que no hay posibilidad de analizar sus recíprocas relaciones. No así en el soma, en donde hasta en las formaciones de hilos paralelos (corteza superficial) se advierten trabéculos finos, pálidos, que juntan en ángulos agudos las neurofibrillas primarias, muchas de las cuales exhiben espesamientos fusiformes en los parajes de encuentro de varias hebras.

Añadamos aún que, entre las células, descúbrese con frecuencia un

plexo nervioso fino, adosado al soma y dendritas, y el cual parece provenir de fibras nerviosas aferentes, muchísimo más delgadas que los axones eferentes ó moto-eléctricos.

Los mejores preparados del centro nervioso eléctrico del torpedo, se han conseguido con la fórmula I (nitrato al 3 y al 6) y con la precedida de fijación amoníacal. Habiendo trabajado sin estufa al lado de nuestro maestro en una playa del Cantábrico, la madurez de la reacción (temperatura de 20 á 22°) ha exigido la permanencia de las piezas en nitrato de plata de nueve á doce días. Creemos, empero, que los resultados hubieran sido todavía más bellos operando con estufa.

Finalmente, se nos han teñido también las terminaciones nerviosas en el órgano eléctrico. Las ramificaciones de las ramas nerviosas ó meduladas se colorean de café obscuro, destacando muy bien; en cambio, las excrecencias varicosas finales, bien estudiadas por los autores, resultan demasiado pálidas y granulosas.

Conclusiones. — 1.ª El protoplasma de las neuronas de las aves, reptiles, batracios y peces, encierra una red de neurofibrillas continuadas con el axon y las dendritas.

2.ª En ningún animal es posible percibir continuación de tales filamentos con hilos extracelulares (red de Golgi, retículo intersticial, etc.), constituyendo, por consiguiente, un factor exclusivamente limitado al protoplasma nervioso.

3.ª En los focos motores medulares y bulbares de los vertebrados inferiores, se confirma también la existencia de terminaciones nerviosas pericelulares con mazas ó botones de Auerbach. En algunos casos, los nidos consisten en un mero despliegue de neurofibrillas.

4.ª El retículo de neurofibrillas está sujeto á mudanzas de repartición y de estructura concomitantes con el estado funcional de las neuronas (reposoó actividad).

5.ª Como rasgo diferencial entre los vertebrados superiores é inferiores, cabe mencionar la pobreza relativa en éstos (en las células pequeñas no motrices) del retículo cortical, y la preponderancia, por tanto, del perinuclear, que se percibe á veces casi con los rasgos típicos descritos por Apathy en las neuronas de las hirudíneas (reptiles). Cuando ambos retículos se hallan conjuntamente, es posible diferenciarlos mucho mejor que en las neuronas de los mamíferos y aves.

A nuestro modo de ver, la presencia de los dos retículos bien deslindados y pobres en fibras (reptiles, batrácios), denota un grado menor en la evolución, que cuando existe uno solo extendido con igualdad. Creemos que el retículo primeramente existente es el perinuclear, siguiéndole en su desarrollo el periférico, al principio bien separados y después, por su-

cesiva complicación del segundo, confundidos en uno solo. Si comparamos entre sí todas las células de un animal adulto, encontraremos que las más pequeñas, con escaso protoplasma alrededor del núcleo, que apenas permite la existencia de red periférica, sólo exhiben la perinuclear, y á medida que va desarrollándose el protoplasma y aumentando el tamaño de las células, se inicia y completa una larga red periférica en las más grandes, condensada de tal modo que se hace indiferenciable de la perinuclear. Además ya había observado nuestro maestro en los mamíferos y hemos comprobado nosotros en las aves y reptiles, la mayor facilidad para la apreciación de ambos retículos en los animales de pocos días, es decir, en fases anteriores de la ontogenia; así células tan complicadas como las motrices medulares, grandes bulbares, ganglionares raquídeas de Purkinje, etcétera, en animales de pocos días, exhiben manifiesta red perinuclear.

Por último, la serie filogénica viene á apoyar más nuestra hipótesis; compárense las células del mamífero y ave con las del reptil, todos adultos, y se verá que hay que recurrir en aquéllos á las medianas y pequeñas para observar con alguna claridad los dos retículos, en tanto que en los reptiles vénse con extraordinaria netitud, hasta en las grandes motrices de la médula, núcleo accesorio del masticador, etc., preciosos ejemplares de esta doble reticulación.

En suma: Ontogénica y filogénicamente, lo primero desarrollado es la red perinuclear, principal contingente del axon y gruesas dendritas; apareció después la red cortical, sumándose á las expansiones un nuevo caudal de neurofibrillas; y, creciendo el cuerpo celular y con él la cantidad de fibrillas de ambos plexos se constituyó la neurona complicada del hombre y de los mamíferos.

Madrid, 11 de Agosto de 1904.

ORIGEN DEL NERVIO MASTICADOR EN LAS AVES,

REPTILES Y BATRACIOS

POR

PEDRO RAMÓN

Profesor de la Facultad de Medicina de Zaragoza.

Foco masticador superior de las aves. — En mis ya antiguas investigaciones, realizadas con el método de la impregnación negra de Golgi en el cerebro medio de las aves, logramos excepcionalmente teñir algunos corpúsculos de configuración piriforme, los que, dada su colocación en la parte posterior del lóbulo óptico, nos hicieron sospechar correspondían á las células motoras del núcleo del nervio masticador. Sin embargo, estos resultados fueron tan inconstantes y las imágenes logradas de los citados corpúsculos tan incompletas, que no pudimos llegar á un concepto claro sobre la verdadera significación de los mismos.

Recientes estudios hechos mediante la aplicación del novísimo método de impregnación ideado por mi hermano, nos han conducido al esclarecimento de este problema, habiendo logrado teñir constantemente los corpúsculos piriformes de esta raíz motora del trigémino.

La figura 1 muestra una sección transversal del cerebro medio de un pájaro. Véase en A las células originarias del nervio masticador. Estos elementos se distribuyen transversalmente, formando una línea bastante regular que pasa de un lóbulo á otro, constituyendo un apretado *tractus* en el interior de la comisura interlobular. Esta formación celular se inicia en la región postero-superior de los lóbulos ópticos mediante alguno que otro elemento situado en la substancia gris central del techo óptico. El número de estos corpúsculos aumenta hacia la línea media hasta formar, como ya hemos dicho, una fila apretada en la región comisural, en cuyo punto es frecuente observar agrupaciones de tres ó más elementos separados por tenues hacecillos de curso caudal, hacecillos correspondientes á los cilindros-ejes de los corpúsculos piriformes. Como la citada figura evidencia, todos estos elementos exhiben una forma piriforme, exactamente igual á la que ofrecen los elementos congéneres de los mamíferos,

según resulta de las investigaciones de Golgi (1), comprobadas por Kölliker (2), Lugaro (3) y S. Ramón Cajal (4).

La superioridad del método de mi hermano sobre el de Golgi para la demostración de estos elementos es indiscutible; baste decir que en cuantas investigaciones hemos realizado nosotros en los lóbulos ópticos de las aves y tubérculos cuadrigémlnos posteriores de los mamíferos, empleando el proceder de fijación al alcohol amoniacal, hemos logrado teñirlos, y en muchas ocasiones de un modo exclusivo.

La inmensa mayoría de los referidos elementos del nervio masticador carece de dendritas, mostrando, tanto en las preparaciones de mi herma-

Fig. 1. — Corte frontal del cerebro medio de un pájaro de pocos días. — A, células del foco masticador situadas en la comisura interlobular; B, células gigantes del techo óptico.

no como en las de Golgi, un contorno liso; mas cuando se exploran cortes horizontales de la comisura intermediaria á los lóbulos ópticos, sobre todo en su prolongación posterior adelgazada en membrana supraventricular, se encuentran mezcladas con elementos monopolares otros bipolares y hasta tripolares (fig. 2, *b*), ya observados también por mi hermano en los mamíferos.

(1) *Golgi*: Intorno all origine del quarto nervo cerebrale. *Alti della reale Accad. dei Lincei*. Ser. V. Vol. II, 1893.

(2) *Kölliker*: Handbuch der Gewebelehre des Menschen. 6 Aufl., pág. 200, 1893.

(3) *Lugaro*: Sull origine di alcuni nervi encefalici. *Arch. di Ottamologia*. Vol. II, fasc. 6, 1894.

(4) *Cajal*: Apuntes para el estudio del bulbo raquídeo, cerebelo, etc., 1895.

La figura 2, *a*, *b*, *c*, que representa uno de tales cortes horizontales, exhibe alguno de estos elementos; de ordinario, la única dendrita marcha en dirección contrapuesta al axon, del cual se distingue bien por el color más rojizo de sus neurofibrillas y no condensarse éstas como en aquél en un cilindro obscuro y compacto.

A cierta distancia la dendrita palidece y parece terminar como deshilachándose. En algunos casos júntanse en paquete las dendritas de dos ó más células, entrando en íntimo contacto durante largo trayecto, disposición que ignoramos si es accidental ó si posee alguna significación fisiológica especial (fig. 2, *b*).

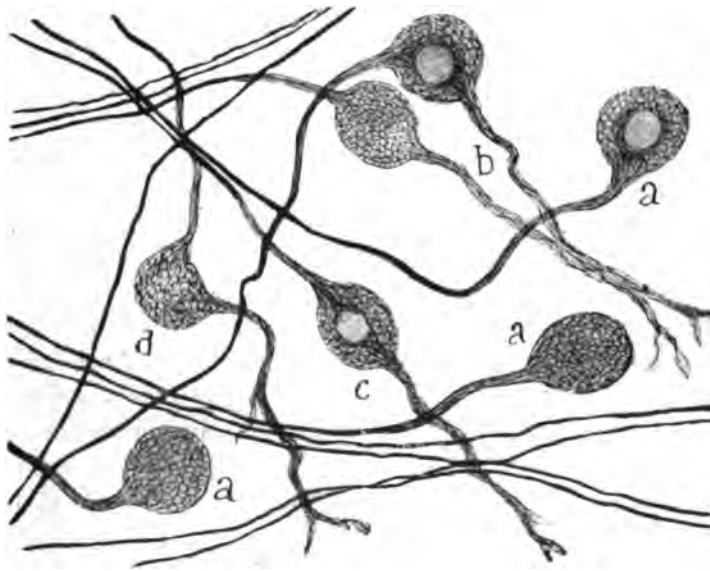


Fig. 2. — Corte horizontal de la comisura que junta posteriormente ambos lóbulos ópticos. Pichón recién nacido. — *a*, célula monopolar; *b*, células con una dendrita.

En la misma figura apréciase un plexo (no reproducido enteramente para no hacer confuso el dibujo) de axones recios emanados de las células susodichas, y los cuales marchan en diversidad de direcciones, pasando á menudo de un hacecillo á otro y llevando, á pesar de estos cambios de dirección, una marcha predominante fronto-caudal.

En cuanto á la estructura de las células piriformes coincide completamente con la reconocida por mi hermano en los mamíferos. En los corpúsculos completamente desarrollados é íntegros, sólo se percibe una red tupida rojiza ó de color café sumamente complicada, mas en las células cortadas en delgados segmentos comprensivos del núcleo ó en los elemen-

tos de las aves jóvenes ó embriones de pollo, obsérvanse con entera claridad los dos plexos neurofibrilares, perinuclear y cortical (fig. 2, *c*). En el tipo monopolar, ambos plexos convergen en el axon; en las bipolares, las dos citadas formaciones neurofibrilares condénsanse por igual en el arranque del cilindro-eje y en el de la dendrita (fig. 2, *a*).

La marcha de los axones de las células del nervio masticador es fácilmente determinable, gracias al diámetro excepcional de aquéllos, explorando los cortes frontales del bulbo comprensivos de los focos oculares y cerebelo. Adviértese que se reunen primeramente en paquetes concentrados á los lados de la válvula de Viussens, cruzan luego y se entremezclan en parte con la porción decusada del patético, ganan después el plano superior del bulbo por debajo y á los lados del ventrículo medio, y luego de caminar cierto trecho hacia afuera y abajo, se aproximan á la región de terminación superior de la raíz sensitiva del trigémino. En ningún caso hemos logrado sorprender fibras cruzadas.

Consideramos seguro que dicha raíz motriz se junte á este nervio, por más que nuestras series de cortes no mostraban con claridad la reunión de ambos contingentes del quinto par, á causa de la gran cantidad de fibras nerviosas de la substancia reticular gris protuberancial con que la raíz descendente se entremezcla en la porción protuberancial de su trayecto.

En los cortes que poseemos de los lóbulos ópticos de los pájaros de pocos días descúbrense también, perfectamente coloreados y destacados, otros elementos de gran talla del cerebro medio. Mencionaremos no más: la impreganción de las células gangliónicas estrelladas de la substancia gris profunda del techo. Tales células multipolares pertenecen al *segundo tipo ganglionar gigante*, descubierto por nosotros en los lóbulos ópticos de todos los vertebrados inferiores (fig. 1, B). La característica anatómica de estos elementos consiste en la conformación estelar del *soma*, en la existencia de varias prolongaciones protoplasmáticas de curso divergente, provistas de *dendritas* espinosas y exentas de las ramificaciones empenachadas que caracterizan el tipo primero de corpúsculos ganglionares. Este otro tipo no representado en la fig. 1, denominado por nosotros *células ganglionares de prolongaciones axoniformes*, es el descubierto por mi hermano en las aves y comprobado posteriormente por Van Gehuchten y reconocido por nosotros en todos los vertebrados.

En los centros ópticos de aves recién nacidas, el método de mi hermano permite una separación perfecta de ambos tipos gangliónicos, puesto que, por una peculiaridad muy estimable y que favorece grandemente el análisis, el proceder de impregnación al alcohol amoniacal, revela exclusivamente, en los embriones y animales recién nacidos (como manifiesta

la fig. 1, B), nuestro segundo tipo de célula ganglionar, consintiendo además la persecución de sus cilindros-ejes, que cruzan la línea media por debajo de los focos motores oculares comunes y engendran alguna vía óptico-refleja descendente, situada no lejos del fascículo longitudinal posterior, y comparable al cordón óptico reflejo de los mamíferos (Held, mi hermano, Wallenberg, Van Gehuchten, etc.).

Origen de las fibras motoras del nervio masticador de los reptiles.—La fig. 3, sacada de una preparación hecha por el Dr. Tello, comprende una sección frontal del cerebro medio de una culebra. Muestra los corpúsculos piriformes del nervio masticador, distribuídos en la región profunda del techo óptico, de idéntica manera que en las aves. Su forma

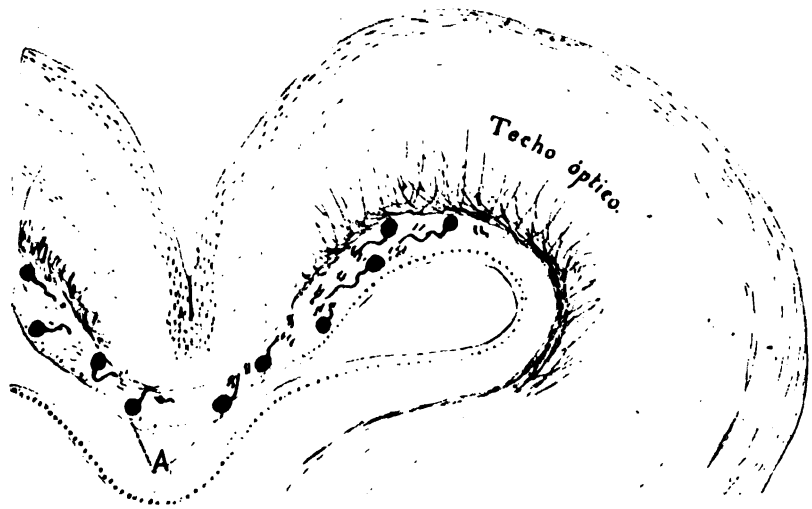


Fig. 3.—Corte frontal del techo óptico de la culebra adulta.—A, células del nervio masticador.

es también piriforme, aun cuando el contorno del soma no ofrece la corrección y regularidad que en aquéllas. Exhiben con gran claridad un armazón de neurofibrillas, más espesas que las de las aves y mamíferos, las cuales penetran y se condensan en el axon. En algunos elementos de menor talla aprécianse ambos plexos concéntricos, perinuclear y cortical.

Las figs. 4 y 5 corresponden á secciones frontales del encéfalo de la lagartija adulta. Adviértase cómo (fig. 4, *a*) los corpúsculos piriformes, intensamente coloreados, residen inmediatamente por debajo del plexo de fibras meduladas profundas, por encima de los estratos de granos. El número de elementos es mucho menor que en las aves, presentándose, por lo común, solidarios y apartados por espacios considerables. Lateral-

mente no parecen alcanzar el borde externo de la cavidad ventricular; en cambio, por dentro llegan hasta el rafe. Los axones radiculares van hacia arriba, formando un poco por encima, y en contacto con la mencionada capa de fibras meduladas del techo, unos pocos, delgados y muy separados hacecillos de dirección fronto-caudal, que se distinguen bien de los manojos medulados vecinos por la robustez excepcional de sus fibras.

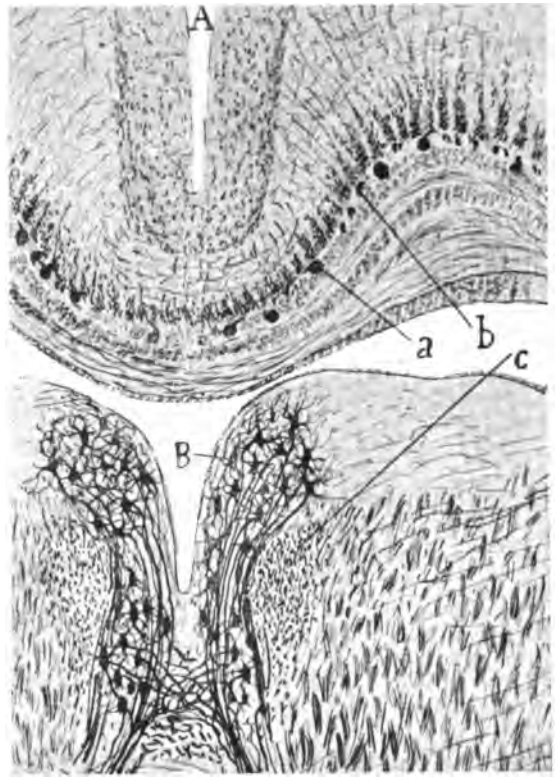


Fig. 4. — Corte frontal del cerebro medio de la lagartija adulta (Lacerta agilis). — A, fisura interlobular; B, foco del motor ocular común; *a*, célula del núcleo masticador; *b*, haces de fibras emanadas de estas células.

Los cortes que interesan el cuarto posterior del techo óptico no parecen contener, al menos en la lagartija, células piriformes. En ellos se descubre bien la serie de los hacecillos del citado nervio masticador, extendidos en ancha y delgada faja transversal, con tendencia á dirigir sus fibras hacia afuera y atrás.

En los cortes que interesan el cruce del patético (fig. 5, A, B), una par-

te de este plano fibrilar, es decir, su porción más lateral se ha hecho externa y descendente. Adviértese cómo sus fibras cruzan por la substancia gris central ó periventricular, separándose de las corrientes descendentes del techo, trazan un recodo no lejos del cruce del IV par, ganan después el plano superior protuberancial á bastante distancia, en sentido transversal, del fascículo longitudinal posterior, y ocupan, finalmente, al nivel

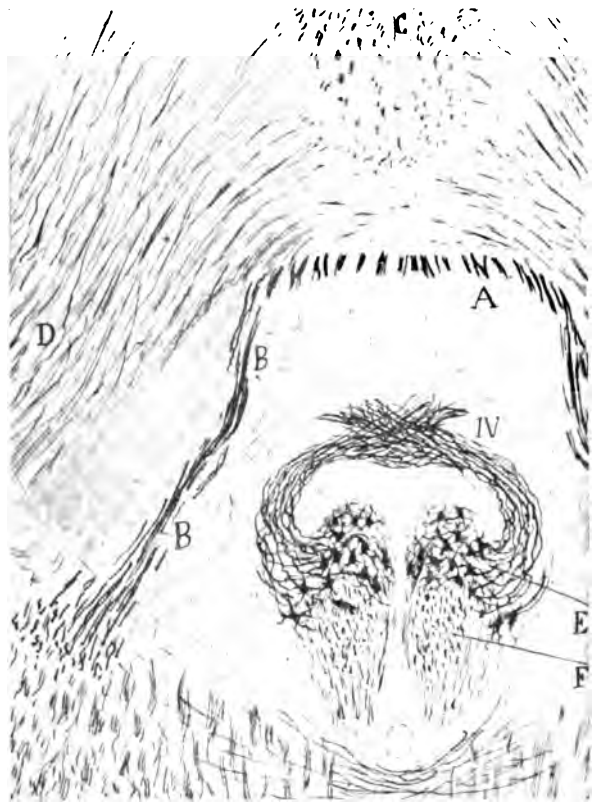


Fig. 5. — Corte frontal del cerebro medio de la lagartija que pasaba á la altura del foco del patético. — A, haces sagitales del masticador; B, porción descendente del nervio; E, foco del patético; F, fascículo longitudinal posterior.

del plano superior y lateral de la protuberancia (fig. 5, B), una área bastante extensa y de forma irregular. Secciones más caudales de la protuberancia que pasen por el cerebelo nos revelan la aproximación sucesiva de dicha área de tubos gruesos masticadores al territorio de terminación de la raíz sensitiva del trigémino. En cuanto á los manojos situa-

dos al nivel del techo óptico, cerca de la línea media, descienden en un plano más caudal, al nivel del cerebro. Tampoco en los reptiles hemos observado fibras masticadoras cruzadas.

En las figuras 4 y 5, aparecen también los focos oculares motores y el núcleo del patético. El procedimiento del nitrato de plata reducido los impregna bien, mostrando las células de color rojo ó marrón con los dos conocidos plexos de neurofibrillas, bien observados por Tello. El axon, grueso al principio, se adelgaza notablemente, palideciendo algo para espesarse otra vez al constituir la radicular, cuyo curso se persigue admirablemente, gracias á su desusada robustez.

Nótase además cómo el foco del motor ocular común consta, á la manera del de las aves, de dos porciones, dorsal y ventral. Reconócese también, del mismo modo que en éstas, que la pléyade ventral exhibe radiculares decusadas (fig. 4).

Células del nervio masticador en los batracios. — Nuestros ensayos con el citado método (fórmula con fijación alcohólico-amoniacal), ha dado buenos resultados en la rana, donde los corpúsculos de origen del foco accesorio del masticador se tiñen bien, y á menudo de un modo exclusivo.

Según se aprecia en la fig. 6, los elementos piriformes se distribuyen de un modo irregular en la región externa del suelo ventricular y porción lateral del techo óptico. Son más gruesos que en los reptiles, poseen forma esférica y un plexo complicado de neurofibrillas que se concentran con el axon espeso, y dirigido hacia atrás y los lados.

Diferentemente que en las aves, dichos elementos, pocos en número y solitarios, faltan en la línea media y al nivel de la comisura interlobar. En ellos no hemos logrado sorprender ninguna dendrita.

En cuanto al curso de las radiculares, sólo podemos decir que es hacia atrás y abajo. La escasez de nuestros ensayos de impregnación nos ha vedado perseguir de un modo completo su itinerario hasta su convergencia en el trigémino.

En el lóbulo óptico de la rana sólo acostumbran á teñirse las mencionadas células. Sin embargo, en algunos cortes aparecen también alguna que otra célula ganglionar estrellada gigante, del llamado por nosotros *tipo ganglionar segundo*, categoría celular jamás ausente en el cerebro de los vertebrados.

Después de lo expuesto, tres hechos conviene hacer notar:

1.° Las células del foco superior del masticador preséntanse con iguales caracteres en la serie de los vertebrados (es probable que en los peces se dé también este fenómeno).

2.° La porción filogénicamente más antigua de dicho foco es la alojada

en el lóbulo óptico; la inferior ó protuberancial, parece representar un perfeccionamiento propio de los mamíferos.

3.° La tenacidad de posición de dichas células fusiformes en el techo óptico, debajo de una importante vía óptico-refleja descendente, hace pensar en una asociación de esta vía con el citado nervio, asociación cuyos detalles están por resolver.

Indicaciones técnicas.—Bien conocido el método de impregnación de mi hermano (fórmula con previa fijación en alcohol amoniacal), sólo haremos aquí algunas breves indicaciones.

Nosotros hemos trabajado sin estufa durante el verano. Los trozos de

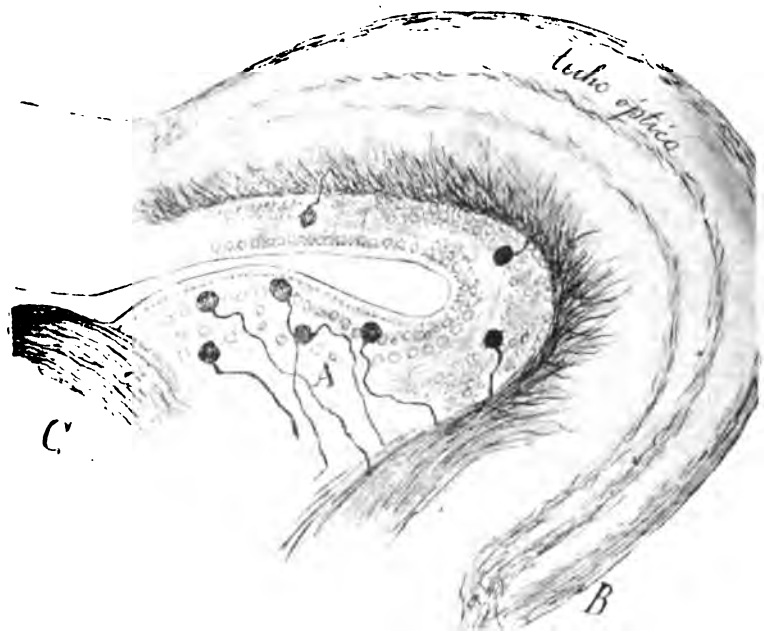


Fig. 6. — Corte frontal del cerebro medio de la rana. — A, células del núcleo masticador.

centros nerviosos procedentes de pichón recién nacido ó de pájaros muy jóvenes, han permanecido de ocho á nueve días en el nitrato de plata al 1'50 por 100, es decir, dos ó tres días más que si hubiésemos utilizado la estufa. Es verdad que la temperatura del laboratorio osciló entre 24 y 26° centígrados. A la temperatura de 25°, siete días de acción del nitrato de plata dieron una impregnación enérgica, pero algo basta y granulosa; mientras que á los once ó doce días la reacción perdió mucho contraste y belleza.

En la lagartija, único reptil en que hemos trabajado (pues las prepa-

raciones de culebra nos fueron enviadas de Madrid), la permanencia óptima en el nitrato (temperatura de 24 á 26°) nos ha parecido ser de ocho á nueve días. El calor parece aumentar también la fuerza de penetración del baño reductor.

El método común (fórmula primera sin fijación alcohólica) no da tan buenos resultados en el estudio de los focos motores como el amoniacal; por lo cual no lo hemos utilizado sino rara vez en las aves y reptiles. En cambio nos ha dado, como á Azoulay y á Nageotte, soberbios resultados en la sanguijuela. Como quizá importe saber cuál ha sido el tiempo de permanencia en el reactivo argéntico, trabajando sin estufa, diré que las más bellas preparaciones del *Hirudo* se han obtenido sometiendo los bloques durante cinco á seis días á la acción del baño de plata al 6 por 100 (temperatura de 25 á 26°). Por consejo de mi hermano hemos añadido, tanto al baño argéntico como al reductor, un poco de alcohol (10 por 100), lo que ha producido aumento de contraste. Para garantizar una buena penetración es indispensable que las piezas extraídas del nitrato sean seccionadas, antes de ser puestas en el reductor, en lonjas de 2 milímetros ó menos; de esta suerte no se corre el riesgo de que los ganglios situados por azar en el centro de piezas algo gruesas, exhiban neurofibrillas demasiado pálidas ó no presenten reacción.

Es claro que las mencionadas condiciones, sobre todo la relativa al tiempo, deberán variar con temperaturas más bajas.

Zaragoza, 20 de Septiembre de 1904.

MECANISMO FISIOLÓGICO DE LA INMUNIDAD NATURAL

POR

R. TURRÓ

Director del Laboratorio de la Academia de Ciencias Médicas de Cataluña.

A. PI Y SUÑER

Catedrático de Fisiología de Barcelona.

I

Antes de entrar en la exposición de las experiencias que constituyen el objeto del presente trabajo, nos conviene legitimar *nuestro punto de vista* en consonancia con lo que llevamos publicado sobre el origen real de las alexinas. Cuantas escuelas aspiran á explicar la inmunidad natural coinciden en un punto: el organismo se defiende de las bacterias *digiriéndolas*. Efectúese esta digestión en la intimidad del plasma leucocitario ó en otros plasmas celulares, en el seno del suero sanguíneo ó en otro humor bactericida, siempre se trata de un fenómeno químico comparable, por su naturaleza zimótica, á la disolución de la fibrina en la solución clorhidropépsica ó á la digestión de un haz de fibras musculares en una solución de tripsina.

Teniendo, pues, en cuenta que la disolución de las bacterias en el organismo es un fenómeno esencialmente químico, precisa ante todo determinar qué substancias actúan sobre ellas y cómo actúan al digerirlas. En este punto, la escuela humoral supone que dichas substancias están contenidas en el serum; mas toda vez que accidentalmente son susceptibles de aumento ó disminución, es natural suponer que no son nativas en el mismo ni forman parte integrante de su composición, sino que ellas proceden y se elaboran en otra parte. Así: es un hecho incontestablemente probado que el serum obtenido *in vitro* ó *post mortem* es más bactericida que en condiciones fisiológicas (Metschnikoff, Roux, Lubarsch, etcétera). La escuela fagocitaria se explica el fenómeno suponiendo una fagolisis en los leucocitos polinucleares que disuelve en el serum substancia activa de sus plasmas transmitiéndole de esta manera sus propiedades bacteriolíticas. En el fondo, pues, la digestión de la bacteria englobada dentro del leucocito, es un fenómeno químicamente idéntico al de bacteria digerida *in vitro* por el *serum*; en esta hipótesis, tan acepta-

ble y lógica, la substancia soluble que actuaba sobre ella en la célula, es la misma que se ha disuelto en el vehículo salino y la resuelve también. Lo único que aquí varía es el sitio en que se realiza el fenómeno. La fagolisis, en suma, no es más que un modo de hacerse soluble en el serum, substancia plasmática comunicándole propiedades bacteriolíticas que antes no tenía ó poseía en un grado menor.

La idea de que el serum no contiene nativamente substancia bactericida ó bacteriolítica, sino que ésta la adquiera mediante desprendimientos plasmáticos que se diluyen en él como en su disolvente natural, es la que nos orientó para determinar la procedencia ó el origen de aquélla. Mas al emprender en 1898 esta labor (1), no empezamos por suponer que el origen de la alexina no podía ser más que leucocitario, por cuanto ésta no se funda en hechos rigurosamente demostrados. La escuela fagocitaria ha demostrado que el leucocito digiere la bacteria que engloba ; ha demostrado, hasta cierto punto, que las propiedades bactericidas del serum *in vitro* pueden proceder de una fagolisis ; mas no se ha preocupado nunca de demostrar que el jugo tiroideo ó el muscular ú de otro tejido no era de por sí bacteriolítico, y ese trabajo era de absoluta necesidad, si se quería señalar á la alexina un origen exclusivamente leucocitario. La experimentación demuestra, por el contrario, que, en mayor ó menor escala, todos los plasmas celulares poseen una propiedad análoga á la de los leucocitos. Lo que importa es determinar las condiciones en que ella se puede poner de manifiesto.

Obteniendo jugo muscular de la carne fresca por medio de la prensa ó bien jugo tiroideo de las glándulas previamente trinchadas, y mezclando con estos jugos raspados de cultivos en agar de un día de *B. Anthracis*, se observa en el espacio de uno á dos días 37°, que las masas de bacilos se resuelven en una materia amorfa que precipita al fondo del tubo. Si el experimento se realiza en el vacío, la digestión es más activa y cada día pueden añadirse nuevos raspados de cultivos hasta la mitad del peso del jugo sin que su actividad zimótica se agote, sobre todo tratándose del jugo tiroideo. El hecho es tan notorio, que el que no atribuyera esa propiedad bacteriolítica al plasma de la fibra muscular ó de la célula glandular, sino á la alexina de origen leucocitario, estaría en el caso de demostrarlo.

(1) *R. Turró* : Zur Bakterienverdaung. *Centralblatt f. Bakt.* B. XXVIII, 1900, p. 178 ; Zur Bakterienverdaung, *Centralblatt f. Bakt*, 1902, n.° 2.

R. Turró : Ursprung und Beschaffenheit der Alexina, *Berliner Klin Wochenschr*, 1903, n.° 38.

R. Turró : Beitrage zum Studium der naturlichen Immunitat, *Centralblatt. f. Bakt*, 1904, n.° 1.

El bazo ó las cápsulas suprarrenales y muchos otros tejidos, suministran un jugo que se coagula inmediatamente; mas reducidos á pulpa fina y macerándoles en agua salina al 1 por 100, ceden al agua de maceración una gran cantidad de plasmas solubles dotados de potencia bacteriolítica. Es tan superior á la del serum y á la de los propios leucocitos que el agua de maceración obtenida de la pulpa esplénica del carnero trasladada inmediatamente al tubo de ensayo digiere en menos de veinticuatro horas un peso igual de *B. Anthracis* de un día, quedando el líquido y la masa bacilar reducidos á una pasta.

El bazo de buey no es ya tan soluble como el de carnero; menos lo es el de cerdo y el de perro, de modo que ensayadas esas maceraciones inmediatamente de efectuada la emulsión, se comprueba que es muy débil ó nula su potencia bacteriolítica. Hasta la edad del animal influye en la solubilidad de los plasmas celulares. Así, el bazo de carnero joven no es de mucho tan soluble como el del adulto. Sin embargo, estos hechos no demuestran que la potencia bacteriolítica no exista en estos plasmas. La prueba de ello está en que si recogemos el líquido de maceración en un tubo y lo conservamos en el vacío, esa potencia crece con el tiempo.

Los ganglios linfáticos, ó la médula de los huesos, no parecen ser bacteriolíticos al principio; mas si una vez triturados pacientemente y mezclados con el agua salina, se les conserva en un tubo anaerobio, al cabo de quince días ó tres semanas se observa que la pulpa ha precipitado al fondo y una mínima cantidad de materia protéica se ha disuelto en el agua, á la que comunica un ligero tinte opalino y una potencia bacteriolítica asombrosa.

Observaciones idénticas á las indicadas pueden repetirse respecto del hígado, riñones, cápsulas supra-renales, pulmones, tejido conjuntivo, substancia nerviosa, etc., de animales de sangre caliente y de animales de sangre fría.

Las propiedades bacteriolíticas de los plasmas orgánicos no las reconocerá *in vitro*, quien ante todo no se preocupe de hacerlos solubles. Es esta una condición muy olvidada, y por esto no es de extrañar que todo el mundo las compruebe en el serum y sean muy contados los sabios que las admitan en los tejidos, por cuanto no se han preocupado de esa condición indispensable: la solubilidad.

Ni en el jugo gástrico ni en el pancreático hemos podido comprobar la existencia de poder bactericida; mas sí lo hemos podido comprobar en el moco y en la secreción espermática del perro y del caballo, que es muy superior al del serum.

Experimentos ya publicados y que creemos al abrigo de todo ataque, cuando menos en lo fundamental, demuestran: 1.°, que los plasmas so-

lubles obran sobre las bacterias como enzymas hidrolíticos; 2.°, que su actividad está en razón directa de su solubilidad (1).

Cuando esos enzymas están perfectamente disueltos en el vehículo salino atacan la bacteria en bloc y su protoplasma se hace cada vez más tenue y transparente hasta fundirse del todo. Así ocurre en el serum sanguíneo y en nuestras maceraciones viejas de tejido hepático, ganglionar, etcétera. Mas cuando los enzymas son escasamente difusibles, atacan la bacteria hidrolizándola de fuera á adentro en forma de una capsulación progresiva hasta resolverlas totalmente. El jugo tiroideo y el muscular, obtenidos por medio de la prensa, suelen presentar, usándolos frescos, esa forma de digestión; el *B. Anthracis* se capsula enormemente hasta la desaparición total del citoplosma en ese espacio claro que no se colora; más tarde también desaparecen las cápsulas. Haciendo una incisión en el bazo del carnero fresco y depositando en ella cultivo de *B. Anthracis*, inmediatamente se capsula enormemente; mas la hidrolisis no progresa porque los plasmas quedan inactivos por coagularse. Basta añadir agua salina para que la hidrolisis continúe y la capsulación aumente. Es evidente que los enzymas esplénicos obran en este caso de esta manera por su escasa difusibilidad, que no les permite penetrar el bloc bacteriano y disolverlo homogéneamente, tal como sucede cuando el plasma esplénico es macerado en cuatro ó cinco veces de su peso en agua salina.

Esas dos formas de digestión pueden apreciarse también en la fagocitosis. A menudo se observa que los microbios fagocitados se funden en el seno del plasma leucocitario hasta desaparecer totalmente; pero no es raro observar que se capsulan en su seno progresivamente hasta resolverse del todo.

Ahora bien; es indudable que las propiedades bacteriolíticas que com probamos en los plasmas preexistían fisiológicamente en las células. Nosotros, al demostrar su existencia *in vitro*, haciéndolas previamente solubles, seguimos el mismo camino que Spallanzani respecto de las digestiones artificiales.

Si bien se mira no aislamos el enzyma; al hacer el plasma soluble lo ponemos en condiciones de revelar una de sus propiedades. El ganglio linfático triturado que se mostraba inactivo en contacto de las bacterias de buenas á primeras, macerado en el agua salada durante quince días ó un mes al abrigo del aire, cede, según se ha dicho, al vehículo disolvente una mínima cantidad de materia albuminoidea, que posee una gran potencia bacteriolítica. De la misma manera, la fagocitosis suministra al *serum* plasma, que se disuelve en este vehículo acrecentando sus energías bactericidas. El objeto experimental de este trabajo no es otro que de-

(1) *R. Turró:* Zur Bakterienverdaung. *Centralblatt f. Backt.*, etc., 1902, n° 2.

mostrar que las inyecciones salinas á dosis masivas al perro y al conejo, determinan fisiológicamente fenómenos de plasmolisis, químicamente comprobables, que aumentan notablemente la resistencia del animal á una infección dada. De todo lo cual se desprende que la solubilidad de los plasmas, así *in vitro*, como en condiciones fisiológicas, guarda una proporción íntima con la energía bacteriolítica.

Ahora bien: el descubrimiento de las propiedades bactericidas del *serum*, sugirió la idea de que contenía una substancia especializada químicamente, como lo es el glucógeno, por ejemplo, creada *ad hoc* para la defensa del organismo, á la que se denominó alexina. El hecho fundamental de que es susceptible de aumento ó disminución, por sí sólo demuestra que no es nativa en el *serum*, sino que ella ha de proceder de otra parte. Metschnikoff le atribuye un origen exclusivamente leucocitario y su presencia en el serum en estado soluble ó activo, lo considera como un caso patológico, pues ó no se obtiene más que *post mortem*, ó caso de presentarse en el animal vivo, presupone averías ó lesiones leucocitarias. En el curso de este trabajo demostraremos, que la hipótesis del sabio naturalista es de todo punto insostenible: 1.°, porque el enzyma bacteriolítico no es exclusivo del leucocito, sino de todos los plasmas; 2.°, porque fisiológicamente podemos determinar por medio de las inyecciones salinas una plasmolisis que aumenta de tal modo la solubilidad de los enzymas bacteriolíticos en los humores y en las células, que llega á hacer refractario al conejo á una dosis mortal de virus carbuncoso.

En lo que estamos de acuerdo con Metschnikoff es en el aserto de que el serum no contiene una substancia específica bactericida, como si formase parte de su composición, base de la teoría humoral. El serum, como todos los humores, puede ser accidentalmente bactericida en mayor ó menor grado, siempre que esta propiedad le haya sido comunicada mediante una previa disolución de materia plasmática; mas nativamente no posee ninguna propiedad bacteriolítica. De aquí que nuestro concepto de la alexina es muy diferente del de la teoría humoral. Nosotros entendemos por alexina la propiedad bacteriolítica de los plasmas solubles; en su origen, la alexina expresa el conjunto de endo-enzymas ó diastasas bacteriolíticos contenidos en las células, cuya actividad se mostrará á medida que el protoplasma de éstas se haga soluble. No hay, pues, unidad química; no existe una substancia que sea únicamente bacteriolítica; existe sí una propiedad en los plasmas solubles por cuya virtud atacan y disuelven las bacterias, y aun ésta varía según sea el plasma de que procede (1). Mas según la teoría humoral, la alexina es una substancia

(1) *R. Turró:* Origine et nature des alexines. *Journal de Phisiol et de Phth generale*, núm. 5, Septembre, 1903.

contenida en el serum y no una propiedad que le ha sido comunicada accidentalmente; se funda, pues, en una hipótesis, puesto que del hecho de que se comprueben en los humores propiedades bactericidas, no se infiere que en ellos exista nativamente una substancia á la que deban aquéllas atribuirse.

Importa mucho retrotraer la significación de las palabras á sus verdaderas condiciones experimentales y no conceder á los hechos mayor extensión de la que realmente tienen. Cuando los humoristas demuestran *in vivo* la propiedad bactericida del serum, imaginan haber demostrado su tesis; mas no es así, puesto que con esto no demuestran que la alexina existe nativamente en los humores. Es preciso reconocer que el punto de partida de la teoría humoral es una pura hipótesis.

La transcendencia que la admisión ciega de esos supuestos acarrea es inmensa, ocasiona grandes confusiones y una serie de nuevas hipótesis que se dan como verdades demostradas. Su examen nos llevaría muy lejos y no es este nuestro objeto, sino que se limita sólo á justificar *nuestro punto de vista* para la exposición del mecanismo de la inmunidad natural. Así se supone que la alexina (conjunto de enzymas bacteriolíticos procedentes de los plasmas que pueden hacerse más ó menos solubles en los humores) sólo está en el serum; se discute si la propiedad hemolítica de un serum es idéntica ó distinta de su propiedad bacteriolítica. La obsesión de la alexina substancial ha inducido á Wassermann á elaborar un suero antialéxico, con el que se pretende neutralizar cantidades dadas de alexina. En éstas y otras muchas cuestiones que nos sería fácil enumerar, se parte siempre del supuesto de que la alexina no es una propiedad comunicada al serum mediante una plasmolisis previa Al determinar el origen de esta substancia, se comprueba que procede de los plasmas y que, por tanto, no es una, sino un complexus en el que el análisis experimental puede demostrar propiedades bacteriolíticas, hemolíticas y otras muchas que están por descubrir. Es ese plasma disuelto en el serum algo comparable al zimógeno del páncreas que al ser tratado por las secreciones intestinales revela la existencia de varios enzymas. Y siendo así ¿cómo cabe discutir si el enzyma hemolítico es idéntico al bacteriolítico? ¿Cómo tomar como simple lo que de sí es tan complejo? ¿Por qué tomar como una substancia especializada lo que, en suma, no es más que un conjunto de propiedades?

Hay un gran número de cuestiones candentes que se agitan en los dominios de la ciencia respecto á la inmunidad natural. Una cuestión previa y fundamental se presupone á todas ellas: cuál es el origen de esa alexina que nosotros llamamos enzyma bacteriolítico.

CONCEPTO EMPÍRICO DE LAS RESISTENCIAS ORGÁNICAS

Hemos recordado, tan clara y abreviadamente como nos ha sido posible, los trabajos anteriores, en que demostramos que las propiedades bactericidas del serum y de los leucocitos pueden á la vez descubrirse en un grado mayor ó menor, según sean ellos, en todos los plasmas celulares, á condición de hacerlos previamente solubles, sin cuyo requisito, absolutamente necesario, pueden mostrársenos como inactivos.

Hoy, que no se reconocen propiedades defensivas más que al leucocito y al serum, se comprenden perfectamente las resistencias que debe vencer la infección para apoderarse de esos elementos; mas si la experimentación demuestra á la vez que se defiende la célula nerviosa, la fibra muscular, la célula epitelial y conjuntiva, merced á enzymas que pueden *devenir* solubles dentro y fuera de ellas, intuitivamente se nos alcanza, desde ese alto punto de vista, que los medios con que cuenta el organismo para defenderse de la invasión microbiana, son incomparablemente más poderosos de lo que permiten suponer las teorías reinantes.

La simple observación empírica nos enseña que *así debe ser* puesto que ni la teoría humoral ni el fagocitismo nos explican la serie de fenómenos, que vamos á exponer concisamente, que habríamos de considerar como verdaderos milagros.

En efecto ; el epitelio de la mucosa gastro-intestinal se halla constantemente en contacto con masas enormes de bacterias, sin que se infecte. El aparato respiratorio es comparable á un filtro que retiene las bacterias que entran sin que expire ninguna. Pues bien ; si esas inmensas extensiones epiteliales no oponen *una resistencia viva* á la germinación de las bacterias ; si ante ellas se comportan como un protoplasma inerte, pasivo, como un tubo de gelatina ¿cómo es dable concebir que no se infecten siendo, como son por su composición, medios tan abonados para su desarrollo?

Cuando se dice que la integridad del epitelio constituye una barrera infranqueable para el microbio, no se enuncia un hecho real : se hace una frase. La *integridad física* del epitelio, ni es muralla, ni es barrera, puesto que las bacterias se cultivarían en la húmeda membrana de envoltura invadiendo después los plasmas. Esa integridad existe en el animal que desangramos y, sin embargo, es presa inmediatamente de la putrefacción. En vida no ocurre así, porque esos plasmas contienen enzymas solubles que atacan la bacteria que en ellos se implante, digiriéndola. Mediante esa resistencia química ó zimótica se opone á su proliferación, constituyéndose en un mal medio de cultivo. Realmente el epitelio se

defiende por su integridad, pero ésta no es física como la de un muro: es fisiológica.

Se dice poéticamente: *la solución de continuidad abre la puerta á la infección.* Nada más vago que semejante aserción. La solución de continuidad mortifica la vitalidad del tejido; se debilita ó anula la potencia bacteriolítica por la coagulación de la substancia plasmática, y *sobre este punto indefenso* se implanta la bacteria y germina; es este un terreno positivamente abonado para la infección, porque el traumatismo anuló su integridad fisiológica. Sólo los fagocitos, acudiendo de otros puntos, podrán liberar el punto indefenso de las bacterias que en él hacen presa; mas mientras conservó su integridad fisiológica, se bastaba asimismo para defenderse. Así vemos que *la herida viva*, es decir, el tejido sin integridad física, pero con integridad fisiológica, se defiende perfectamente. Testimonios elocuentes sean de ello el raspado del lupus ó el raspado uterino. La cucharilla que llega al tejido sano lo embadurna de bacterias; mas no prosperan allí con la misma facilidad que en el tejido enfermo ó necrosado; tropiezan con una resistencia viva, con la acción bacteriolítica de esos plasmas, que no existía en los detritus raspados.

Asimismo, la idea del *terreno* fértil ó infértil para las especies bacterianas, tal como la sugirió Pasteur en la infancia de la bacteriología, es inadmisible.

El organismo, privado de sus naturales medios de defensa, es un medio de cultivo tan excelente que supera á los medios artificiales que usamos. Si el agente contagiante prende con relativa facilidad en unos individuos y en otros no; si en los mismos individuos infectados unos se defienden mejor que otros, este fenómeno no es debido á la fertilidad ó infertilidad *del terreno*, sino á la energía bacteriolítica de sus plasmas celulares, que les permite oponerse á la infección, ó bien les consiente sólo defenderse según cierto grado ó medida. No es, pues, *el terreno* un medio de cultivo más ó menos apropiado á la germinación del contagio; es, por el contrario, algo vivo cuyas condiciones fisiológicas han de modificarse profundamente para que el contagio prenda.

Algunos ejemplos nos demostrarán empíricamente que positivamente sucede así.

Los caldos glucosados al 8 por 100 (1) nos han permitido aislar de primera intención, de individuos sanos, pneumococus virulentos puros. En estos sujetos no estalla la pneumonía, lo que quiere decir sencillamente que el elemento infectante no infecta; mas si una acción deprimente como el frío, ó una acción coagulante como un traumatismo, debilita ó

(1) *R. Turró:* La glucosa dans les cultures du pneumocoque, *Journ, de phis et de Path. generale*, n.° 4, 1904.

anula la potencia bacteriolítica de los plasmas, mediante la que se defendía, el pneumococo se implanta, germina y la pneumonía estalla de improviso.

La encía sana, sin ser aséptica, está limpia por lo general. Basta que una estomatitis mercurial amortigüe la vitalidad de su tejido para que los microbios la cubran á modo de una costra grisácea. Es, pues, del caso preguntarse por qué no la cubrían antes.

No hay quien ignore que la inofensiva cerveza basta á veces para agudizar una blenorragia; que un vaso de agua fría ó un disgusto pueden provocar unas anginas en los sujetos predispuestos. De antiguo viene diciéndose que la infección surge *in loco minoris resistentiæ*. Esa verdad empírica, que irradia de sí un grande esplendor, ha sido comprobada también experimentalmente (Nocard-Roux, Grawitz, etc.).

Ahora bien: si un empirismo secular, sano y vigoroso, nos induce á creer que el tejido vivo se defiende de la invasión microbiana, es vano empeño de las teorías reinantes el pretender prescindir de una observación tan elocuente reduciéndolo todo al *parti pris* de unos humores que funden los microbios ó de unos leucocitos que los devoran. Si los tejidos son pasivos ó inertes ante los gérmenes, si con ellos se comportan como una masa nutritiva de gelatina, deberían podrirse. Cuando se invocan como medios de defensa sus disposiciones estructurales, es decir, las condiciones físicas que no permiten la penetración de los gérmenes, en rigor no se hace más que llenar con palabras los inmensos vacíos que las teorías imperantes dejan inexplicados. A menos de la capa córnea del tegumento externo, apenas si existe una superficie que no sea un medio de cultivo excelente para los microbios que la cubren sin lograr infectarla; si no penetran en la célula, no es porque sea impenetrable físicamente, pues de serles posible germinar exteriormente, la penetrarían por contigüidad. Los tejidos que, como los epitelios gastro-intestinales ó del aparato respiratorio, del conducto vaginal ó uretral, etc., no viven en contacto directo con los gérmenes, tampoco son inaccesibles á los mismos. No recordaremos más, en apoyo de nuestro aserto, que los trabajos de Grawitz ó las viejas lecciones de Verneuille sobre el *microbismo latente*, que responden, como tantas otras, á un criterio clínico razonable y justo que se inspira siempre en la intuición empírica de las *resistencias orgánicas* menospreciadas ó no tenidas para nada en cuenta por las escuelas reinantes. Si los riñones, el bazo, el hígado, etc., no se infectan, es porque ellos gozan, como los epitelios intestinales, de propiedades bacteriolíticas, por las que se constituyen en un mal medio de cultivo; basta que las debilitemos para que la infección aparezca, á pesar de que el germen no tiene ahora más fácil acceso que antes.

En suma; la observación empírica nos enseña que sólo por sus energías fisiológicas se defienden esas agrupaciones celulares que llamamos tejidos de los gérmenes infectantes. La experimentación, al rehusar á la fibra muscular ó á la célula nerviosa, la potencia bacteriolítica que concede al *serum* ó al leucocito, procede con una ceguera inconcebible.

Ahora bien; nosotros hemos visto que *in vitro* podíamos demostrar la existencia de enzymas bacteriolíticos en los plasmas celulares, cuidando de hacerles solubles en el agua salina; hemos visto también que, á medida que un plasma es más soluble en el vehículo disolvente, mejor acusa su energía mezclado con las bacterias. Este problema, estudiado hasta ahora por uno de nosotros bajo su aspecto puramente químico, puede ser trasladado al terreno de la experimentación fisiológica en esta forma: las soluciones isotónicas de Nacl, que con tal clarividencia nos demuestran la acción bactericida de los plasmas, ¿obrarán de la misma manera inyectadas al organismo vivo? ¿Liberarán también de los plasmas energías bactericidas que aumenten la potencia defensiva del animal contra una infección dada?

Tal es el objeto experimental de este trabajo.

II

Ya adelantamos en Enero de 1904 que las inyecciones salinas á dosis masivas inmunizaban temporalmente los conejos contra el virus carbuncoso (1); mas no estudiamos este fenómeno con todo el detenimiento que por su importancia merece.

Inyectando por la vía hipodérmica á los conejos adultos 100 centímetros cúbicos de solución isotónica de cloruro sódico por kilogramo y dejándolos en reposo durante veinticuatro horas, se comprueba que al cabo de ese tiempo resisten la inoculación de una gota de cultivo en caldo de *B. anthracis* de un día que mata á los testigos en el espacio de cuarenta y cuatro á cincuenta horas. El sitio de la inoculación es en el tejido subcutáneo del muslo. La reacción local es manifiesta, acusándose por un aumento de temperatura y tumefacción, síntomas que remiten entre el segundo y tercer día. La inyección de tan enorme cantidad de agua salina la efectuamos la mitad en el lado derecho y la otra mitad en el lado izquierdo.

El *efecto fisiológico* que dicha inyección surte parece alcanzar su *máximum* entre las veintidós y veintiocho horas; basta inocular el virus á los dos días para que el conejo sucumba de bacteridemia con un pequeño

(1) *R. Turró:* Beitrage zum Studium der naturlinchen immunitat. *Centralblatt f. Bakt.*, etc., nº 1; 1904.

retardo respecto de los testigos; á los tres días no acusa resistencia alguna y muere como éstos, con lo que se ve que la inmunidad conseguida por las inyecciones salinas es transitoria, fugaz y de ningún modo puede compararse á la que se obtiene por medio de las vacunas, que es de muy distinta naturaleza que ésta. Depende únicamente del *efecto fisiológico* de la inyección salina, de modo que una vez ha pasado y el organismo recobra su normalidad funcional, desaparecen las resistencias ó medios de defensa que opuso á la inoculación del virus. Para que este *efecto fisiológico* se produzca, se necesitan de veintidós á veintiocho horas. En efecto, inoculando el virus simultáneamente con la inyección salina, los conejos mueren como los testigos, aun en el caso de inyectar cada diez horas 20 cent. cúb. más de agua salada; lo propio ocurre cuando se inocula á las diez horas.

El *efecto fisiológico* de la inyección salina, que requiere para su aparición un espacio de tiempo dado, no se produce cuando se perturba la normalidad funcional del organismo. La inyección subcutánea de 2 gramos de alcohol diluído, de éter ó cloroformo basta para anular sus efetos; los conejos mueren de la inoculación del virus como los testigos. La inyección de 1 gramo de láudano surte idénticos efectos. Traumatizando el tejido subcutáneo del muslo por medio de una solución dilatada de ácido láctico, ó bien mecánicamente, se anula también la acción preservatriz del agua salina. En una de nuestras experiencias bastó una ligerísima hemorragia que sobrevino por atravesar una venilla al hundir la aguja de la jeringuilla, y que pudimos apreciar por el tinte rosado del agua que rezumó del tumor al desclavarla, para que la inmunización no se consiguiera.

La edad de los conejos influye también en la eficacia de las inyecciones salinas. Los que no alcanzan á dos meses no resisten tanto como los que exceden de tres meses y cuyo peso sea de 700 á 900 gramos ó más; los más jóvenes sucumben todos á la inoculación del virus.

Un hecho digno de especial mención debemos consignar. Los conejos que inoculamos en la cara interna de la región central de la oreja con ánimo de observar mejor la reacción local, sucumben, por regla general, con un retardo mayor ó menor respecto de los testigos. Haciendo un corte fino y puramente dérmico, y comprimiendo los lados del mismo á las ocho horas se recoge del punto de inoculación con la laminilla una pequeña cantidad de serosidad, que se fija, se colora con la solución acuosa de violeta de genciana, se trata por el Gram, y una vez decolorada por el alcohol se vuelve á colorar por la eosina al 1 por 100. El examen de estas preparaciones demuestra que un gran número de bacilos han perdido ya la propiedad de retener el color básico y están en plena

bacteriolisis, pues su citoplasma está enrarecido é impregnado de un ligero tinte rosado. En este momento, la diapedesis leucocitaria es casi nula; la digestión de los bacilos es puramente humoral. A las veinticuatro horas la flogosis es notoria, y repitiendo la operación según se ha descrito, se comprueba que un gran número de bacterias se funden en la serosidad y que los polinucleares engloban preferentemente los restos que quedan de esa digestión humoral, sobre todo los bacilos sueltos, más ó menos alterados, que resultan de su desarticulación del filamento.

Estas observaciones, que en este trabajo no hacemos más que apuntar, revelan por parte del conejo tratado previamente por la inyección salina, una energía defensiva que no acusa en condiciones ordinarias. Cuando el animal ha muerto ya, con un retraso mayor ó menor respecto de los testigos, el mismo fenómeno se comprobará más brillantemente con el examen microscópico del *reclage* esplénico. Al lado de bacilos típicos que conservan el Gram se descubren un gran número de otros que están en plena bacteriolisis y cuyo citoplasma es tan ténue que apenas se hace visible.

Indudablemente estos fenómenos denuncian en esos humores una potencia bacteriolítica que no poseen los conejos normalmente. Las fases de este proceso, sinceramente examinadas, persuaden que el fenómeno inicial que determina la inflamación auricular radica en esa digestión humoral que suministra la *materia química irritante* que dilata los vasos y lesiona el endotelio y pone en juego la serie de factores que luego tomarán parte en el desenvolvimiento del proceso. La fagocitosis es consecutiva á esa iniciación del proceso, puramente humoral, y aun hay que sentar que la digestión leucocitaria se efectuará con tanta mayor facilidad cuanto mejor haya preparado la primera los elementos fagocitables.

Los bacilos de protoplasma enrarecido que descubrimos á las ocho, veinticuatro y cuarenta y ocho horas de inoculados en la oreja de los conejos tratados por las inyecciones salinas, no están muertos á pesar de no colorarse por los colores básicos. Las siembras en caldo demuestran que se reproducen con caracteres análogos á los que muestran en los humores orgánicos y que son capaces de regenerarse por medio de cultivos sucesivos.

En resumen: hasta en el caso de morirse los conejos de carbunco tratados por las inyecciones salinas, bien por ser muy jóvenes, bien por inocularse en un tejido de tan escasa vitalidad como la oreja, el examen bacterioscópico demuestra que poseen energías defensivas ó bacteriolíticas mayores que las que revelan en su estado normal.

El acrecentamiento de las resistencias orgánicas para el carbunco obtenido mediante la inyección masiva de agua salina, lo hemos ensayado también respecto de las infecciones estreptocócicas.

Se determinó la virulencia de un estreptococo aislado de un flemón, inoculándolo á la dosis de cuatro gotas en la vena auricular de un conejo; el animal murió al sexto día, y con nuevos cultivos obtenidos del mismo se inoculó con igual dosis y en el mismo sitio un lote de seis conejos, preparados veinticuatro horas antes con la inyección salina, y dos testigos. Los testigos sucumbieron entre el quinto y sexto día y los demás se salvaron todos, menos uno, que murió á los catorce días de esta infección, según demostraron los cultivos del hígado y de la serosidad del pericardio. Repetido el experimento otras veces con otros estreptococos, uno aislado de una difteria y otro de una erisipela, siempre hemos comprobado que los conejos se salvan en su mayoría y los que sucumben es con un retraso notable respecto de los testigos.

Para poder apreciar *de visu* los efectos inmunizantes de las inyecciones salinas, hemos determinado erisipelas en las orejas de los conejos adultos, unas veces con streptococcus muy virulentos y otras con gérmenes algo más atenuados. Del conjunto de nuestras experiencias resulta:

1.° Que los streptococcus de poca virulencia inoculados á los conejos inyectados con agua salina, determinan una reacción inflamatoria que se apaga al segundo día y desaparece al tercero; en cambio, en los testigos los síntomas son más acusados, la tumefacción mayor, con notable cantidad de exudado que se agrava hasta el día cuarto, y se extingue entre el sexto y séptimo.

2.° La inoculación en la oreja de los conejos tratados por las inyecciones salinas de estos mismos cultivos, no determina una flogosis tan intensa como en los testigos.

3.° La inoculación de una á dos gotas de cultivos virulentos á la oreja de los conejos tratados anticipidamente con las inyecciones salinas, no determina de mucho una flogosis tan intensa como en los testigos; mientras en éstos la erisipela invade la oreja que se cae como un cuerpo pesado, aparecen flictenas que destilan un líquido seroso y la tumefacción engruesa notablemente la piel, en aquéllos el foco es más circunscrito y no presenta caracteres tan graves; mas á pesar de que la infección local es en éstos más benigna, no oponen más resistencia que los otros á la generalización de la infección, si bien es más rara que en aquéllos y la muerte sobreviene con marcado retraso respecto de estos últimos.

Cuantas indicaciones hemos apuntado sobre las causas que anulan ó modifican la acción inmunizante del agua salada en la bacteridemia de

los conejos, son perfectamente aplicables á la infección estreptocócica y excusamos repetirlas Lo propio decimos de la bacteriolisis de las cadenillas; su digestión humoral es evidente, los cocos se desarticulan y se funden en el seno de la serosidad hasta desaparecer del todo, y ese fenómeno inicial, observable antes de que aparezca la fagocitosis, se continúa luego con ella.

Del examen paralelo de esa digestión en la serosidad de los conejos tratados por la inyección salina y de la de los testigos, se saca la convicción de que su potencia bacteriolítica está notablemente aumentada en los primeros.

III

Nosotros hemos dicho que el acrecentamiento de las resistencias ó medios de defensa de los conejos tratados previamente por las inyecciones salinas, son debidas al *efecto fisiológico* que éstas producen. No admite siquiera discusión que no es el agua salada la que aumenta las resistencias orgánicas, sino la acción que ejerce sobre los plasmas celulares. Esa acción es ya sabido que es disolvente; merced á ella se hace el protoplasma celular más soluble, cediendo substancia á los líquidos ambientes y por ende á los humores circulantes. Ahora bien, como llevamos demostrado *in vitro* que los plasmas son tanto más bacteriolíticos cuanto más solubles sean, de ahí que es lógico suponer que la mayor resistencia que acusan los conejos tratados por las inyecciones salinas es debida á la liberación de los plasmas de una mayor cantidad de alexinas ó enzymas bacteriolíticos. Mediante ese razonamiento planteamos un problema fisiológico, para cuya resolución es necesario demostrar: 1.°, que el grado de concentración molecular aumenta después de las inyecciones salinas, lo que es debido á una plasmolisis aumentada; 2.°, que la potencia bacteriolítica del serum y de los humores en general, crece á medida de la disolución de protéicos.

*
* *

Efecto fisiológico de las inyecciones salinas.—Son ocho las observaciones que hemos realizado con el objeto de demostrar la realidad del desprendimiento plasmático después de las inyecciones salinas, experimentando en cuatro perros y seis conejos.

PERRO NÚM. 1. — PESO: 6'50 KILOGRAMOS

	Δ	Albúmina.	NaCl
Antes de la inyección.....	0'60	60'8 por 1000	
Veinticuatro horas después de la inyección de 400 cent. cúb.....	0'63	62'4 —	Invariable.

PERRO NÚM. 2. — PESO: 8 KILOGRAMOS

	Δ	Albúmina.	
Antes de la inyección.....	0'57	56'3 por 1000	
Veinticuatro horas después de la inyección de 400 cent. cúb.....	0'62	59'8 —	Invariable.

PERRO NÚM. 3. — PESO: 5'50 KILOGRAMOS

	Δ	Albúmina.	
Antes de la inyección.....	0'54	58'8 por 1000	
Veinticuatro horas después de la inyección de 400 cent. cúb.....	0'62	64'7 —	Invariable.

PERRO NÚM. 4. — PESO: 11 KILOGRAMOS

	Δ	Albúmina.	
Antes de la inyección.....	0'58	61'5 por 1000	
Veinticuatro horas después de la inyección de 500 cent. cúb.....	0'59	63'6 —	Invariable.

CONEJOS TESTIGOS NÚM. 1 Y 2

	Δ	Albúmina.	NaCl
Núm. 1 (testigo).....	56 media: 0'58	52'4	
Núm. 2 —	60 —	56'7	

CONEJOS INYECTADOS CON LA SOLUCIÓN SALINA

	Δ	Albúmina.	NaCl
Núm. 3 (200 cent. cúb.).....	0'59	50'8	Invariable.
Núm. 4 (200 cent. cúb.).....	0'61	54'1	—
Núm. 5 (100 cent. cúb.).....	0'63	53'2	—
Núm. 6 (200 cent. cúb.).....	0'68	48'4	—
		media: 0'62	

Por el resultado general de estos experimentos se ve que hay un aumento constante de concentración molecular, consecutivo á las inyecciones salinas. La tasa de albúmina aumenta en los perros; no se comprueba del mismo modo en los conejos. Respecto á la cantidad de cloruro sódico, que hemos determinado por el método de las gotas, así en los perros como en los conejos subsiste invariablemente igual.

Ahora bien; semejantes resultados demuestran la realidad de la plas-

molisis. La determinación comparada de la cantidad de albúmina en el suero, lo indica claramente. Por el calor y la mezcla picrocítrica determinamos la suma total de la albúmina ; si después de la inyección salina en el perro vemos que aumenta, es evidente que ese aumento denuncia la existencia de un arrastre plasmático que ha enriquecido el suero de elementos protéicos. La crioscopia, por su parte, aun prescindiendo de ese dato que no acusan los conejos, basta para confirmar ese desprendimiento de materia plasmática, pues el descenso, constantemente repetido, del punto de congelación, revela una mayor concentración molecular en la que no puede apenas influir la molécula de albúmina sino la de sus derivados, mucho más pequeñas y numerosas. Lo único que podría influir sobre el valor de Δ, son las sales inorgánicas. De éstas, la más importante es el cloruro sódico ; los demás compuestos minerales se encuentran en el suero en tan exigua cantidad que la influencia de sus posibles variaciones cuantitativas sobre el punto de congelación, no debe tenerse en cuenta. Ya hemos dicho que el cloruro sódico, por ser un factor invariable en los animales inyectados y en los que no lo son, no puede influir en las diferencias que acusan unos y otros. La crioscopia, pues, indica, sin ningún género de duda en nuestros experimentos, la descomposición de la molécula protéica, desdoblamientos de mayor cantidad de albúmina, una plasmolisis evidente.

Como se ve, nuestros resultados coinciden en parte con los de Loeper. Este investigador observó que en la dilución sanguínea aumenta algunas veces el punto crioscópico, quedando inalterable la tasa de los cloruros. En cambio, afirma que la cantidad de albúmina disminuye. Aun cuando en este punto nuestros resultados son opuestos respecto de los perros, la divergencia es de fácil explicación si se tiene en cuenta que Loeper efectúa sus observaciones inmediatamente de practicada la inyección que diluye la sangre, mientras que nosotros las realizamos al cabo de veinticuatro horas, tiempo suficiente para que se efectúe la plasmolisis.

El efecto fisiológico de las inyecciones salinas consiste, según se ve, en liberar de los plasmas substancia soluble que aumenta el poder bactericida de las células, de una parte poniéndolas en mejores condiciones de defensa, y de otra los humores por la substancia desintegrada que de ellos recogen. Si el conejo se defiende temporalmente mejor de la infección estreptocócica y carbuncosa en estas condiciones que en las normales, es precisamente por esta causa ; por ella sus humores y sus tejidos gozan de un poder bacteriolítico que no poseen normalmente (1).

(1) Loeper señala, en el trabajo de que hemos hecho mención, un fenómeno de excepcional importancia. Según este sabio, *la crisis* se caracteriza por un aumento

Mecanismo de la acción bacteriolítica del serum sanguíneo. — Por los experimentos que acabamos de exponer se ve que realmente las inyecciones salinas determinan una plasmolisis; tócanos ahora demostrar que siempre que determinamos *in vitro* fenómenos análogos, en la sangre aumentan las propiedades bactericidas del serum.

Dos métodos tenemos para determinar el *quantum* del poder bacteriolítico: el del asa de platino y la numeración de las colonias y el de las pesadas. El primero es más delicado y más preciso que el segundo, si bien puede inducir á error con respecto al *B. Anthracis*, por cuanto en las digestiones *in vitro* se desarticulan los bacilos del filamento y aumentan el número de unidades bacterianas en la dilución según sea la potencia bacteriolítica del líquido que ensayemos. Nuestro método de las pesadas es más grosero que éste; mas para apreciar el más y el menos de energía bacteriolítica, sirve admirablemente. He aquí nuestras unidades de medida: 0'25 gramos de *B. Anthracis* sembrado veinticuatro horas antes en agar peptonizado; líquido que se desea ensayar, 2 gramos. La emulsión se deposita en un tubo anaerobio Turró y se somete á 37°. Debemos advertir que la siembra de nuestros tubos de gelosa, hecha con dos ó tres gotas de cultivo de bacteridia que bañan uniformemente su superficie, dan un cultivo cuyo raspado pesa alrededor de 0'25 gramos, y por eso fijamos ese peso; de manera que cuando deseamos ensayar la potencia bacteriolítica de un serum dado, tiramos 2 gramos del mismo sobre la superficie del agar, mezclamos el cultivo con el líquido, y luego lo aspiramos con una pipeta para trasladarlo al tubo anaerobio. De esta manera se simplifican las manipulaciones y no se corren los peligros de una infección eventual.

Un experimento fundamental demuestra que las alexinas del serum proceden del plasma. Recogida la sangre de un conejo en un tubo anaerobio y mantenido á baja temperatura, se ensaya su potencia bacteriolítica por el método de las colonias al cabo de veinticuatro horas; se tira el serum restante y el cuajo que queda en el tubo es sumergido en un peso igual de agua salina al 1 por 100 y 4 por 100 de fluoruro sódico. Esa maceración, efectuada fuera de la acción del oxígeno, contiene á los tres días, y aun antes, enzymas bacteriolíticos más activos que los del serum espontáneo. Diluyendo bacilos en una cantidad dada de ese líquido en las mismas condiciones que se hizo tres días antes, se comprueba que á las

en la concentración molecular de la sangre, que se traduce más tarde por mayor eliminación de urea, disminución de albúmina que luego se trueca en aumento, y la inmovilidad de la tasa de cloruro sódico. Los efectos de la crisis en las enfermedades internas y los de esa crisis artificial que provocamos con las inyecciones salinas, obedecen en el fondo á un mismo mecanismo fisiológico.

seis horas sólo da una colonia por cada 10 que daba el serum espontáneo. Por el método de las pesadas se comprueba que en veinticuatro horas reduce á materia amorfa los 0'25 gramos de *B. Anthracis* mientras que el primero los digiere tan imperfectamente que al cabo de tres días existen todavía un gran número de bacilos que no han sido atacados, pues conservan el Gram.

El mismo experimento puede repetirse trasegando el suero á los dos días en vez de macerar el cuajo al cabo de veinticuatro horas, lo cual demuestra que no es posible atribuir el fenómeno á un remanente de suero que se forma el segundo día, sino á una disolución del plasma, además de que la mayor potencia bacteriolítica que posee el líquido de maceración depone en contra de esta sospecha.

El serum, como todos los plasmas, es muy oxidable; al cabo de poco tiempo pierde por esta causa su acción bacteriolítica y se convierte en un buen medio de cultivo para el *B. Anthracis;* mas evitando la acción del aire, la conserva, al parecer, indefinidamente. Por esta razón, todos nuestros experimentos los hacemos en tubos anaerobios.

La acción disolvente que ejerce sobre el plasma la solución salina adicionada con fluoruro sódico, la ejerce también el suero espontáneo, bien que no tan intensa. El serum de conejo, obtenido á las veinticuatro horas y separado del coágulo, y el que se separa á los tres días, poseen una fuerza bacteriolítica muy distinta; la del segundo está notablemente reforzada respecto del primero, y esa diferencia puede comprobarse por el método de las colonias, y es bastante marcada para que también pueda probarse por el método de las pesadas.

Siempre que al serum de una potencia bacteriolítica dada le añadimos con el estilete una pequeñísima cantidad de fibrina, no sólo observaremos que la disuelve, sino que, además, comprobaremos que su proteolisis bacteriana es más enérgica.

Todas estas observaciones, que nos demuestran que el serum es más ó menos bacteriolítico, según contenga más ó menos cantidad de materia plasmática en disolución, las hemos aplicado al estudio del serum de perro. Nuthall afirmó que ese humor es bactericida para el *B. Anthracis;* lo mismo afirmó Denys, bien que más tarde, con la colaboración de Havet, puso al aserto algunas restricciones. Lubarsch lo niega resueltamente; Metschníkoff y Gengou sostienen también esta tesis.

He aquí el resultado compendiado de nuestras experiencias:

La sangre del perro se coagula con una gran rapidez, y ese coágulo se nos muestra como una masa densa fuertemente solidificada, lo que no ocurre con la del conejo. A veces, á las pocas horas da un suero claro opalino; otras veces tarda mucho más. La sangre del perro salada al 1

por 100 no purga suero hasta los dos días cuando menos, y aun éste es muy denso y espeso. Ahora bien; siempre que nosotros hemos ensayado el suero de perro formado á las pocas horas de haber sangrado al animal, hemos comprobado que no es bacteriolítico; á las veinticuatro horas, cuando lo es, lo es muy poco; á veces sucede que tampoco da muestras convincentes de serlo á los dos días, aun en el caso de tener la dilución de bacilos en su seno durante veinticuatro horas á 37°. Mas si nosotros incorporamos á todos estos sueros inactivos una mínima cantidad, quizá menos de un quinto de gota, del líquido espeso y densísimo que se forma en el tubo de sangre salada, de suerte que en ellos se disuelva, comprobaremos que todos ellos son notoriamente bacteriolíticos.

Este experimento nos indica que si el serum de perro es comunmente inactivo, esto depende de que se coagulan al formarse el cuajo con tanta energía las substancias bacteriolíticas, y que no se redisuelven fácilmente en el suero; si aumentamos por medio de la sal su solubilidad, inmediatamente nos mostrará su actividad proteolítica. En efecto; macerando el cuajo, una vez purgado de suero, con nuestra solución salinofluorhídrica, al cabo de dos ó tres días nos mostrará una potencia bacteriolítica el líquido de maceración, muy superior al que obteníamos del coágulo del conejo. Es más; esa acción redisolvente la comprobamos también en el mismo suero del perro, bien que, por las condiciones físicas del coágulo, tarda más en manifestarse. Así vemos que recogiendo con todas las precauciones asépticas sangre de perro en varios tubos de ensayo y cubriendo la superficie superior de parafina esterilizada al autoclave y fundida á 40°, el serum de cuantos tubos se conserven es bacteriolítico constantemente á los seis días como *máximum*.

En vista de estos resultados, cabe afirmar que si el serum de perro es inactivo *in vitro* generalmente, de esto no se puede concluir que no sea bactericida en condiciones fisiológicas, pues en el organismo contiene alexinas en perfecto estado de disolución, que pasan á formar parte del coágulo inmediatamente de operada la sangría. En estas últimas condiciones pueden mostrarse tales como obran en el organismo vivo. *Corpora non agunt nisi soluta.*

Cuando hacemos refractario temporalmente al conejo á una dosis de *B. Anthracis*, ponemos á este animal en condiciones semejantes á las que naturalmente tiene el perro. En efecto; sangrando al conejo veinticuatro horas después de efectuada la inyección salina, su sangre se coagula casi con tanta rapidez como la del perro; el coágulo es denso y duro. Hasta los dos días no se forma el serum. Ensayada la acción bacteriolítica de este serum se ve que es menor que la del conejo normal. Desde el punto de vista de las teorías reinantes, este fenómeno es sor-

prendente, misterioso ; mas desde nuestro punto de vista es naturalísimo que así suceda. Las alexinas ó enzymas bacteriolíticos son propiedades de los plasmas celulares ; por nuestras investigaciones ya indicadas demostramos que existe una plasmolisis que aumenta la cantidad de protéicos coagulables en el serum; nada, pues, más lógico que la potencia de coagulación de la sangre aumenta en proporción de la plasmolisis. Mas esas substancias, que se incorporan al coágulo, son las que poseen la propiedad bacteriolítica á condición de ser solubles, y como ahora no lo son ó lo son escasamente, de aquí que el serum sea apenas bactericida. Si bien se mira se reconocerá que á medida que crece fisiológicamente la potencia bacteriolítica de la sangre, debe disminuir la del suero *in vitro* mientras no sean redisueltos los enzymas del coágulo.

Sin embargo, aun cuando el suero de los conejos inyectados goce de buenas á primeras una potencia bacteriolítica inferior á la del suero normal, con el transcurso de los días ese suero va adquiriendo mayor energía en contacto con el coágulo, pues su propiedad redisolvente es más activa que la del perro. Macerado con la solución salina fluorhídrica, una vez purgado de serum, suministra un líquido activísimo. Lo propio ocurre con el serum de perro en el que hayamos provocado una plasmolisis con las inyecciones salinas. Si nos fuera dable medir la cantidad total de enzymas bacteriolíticos en unos y otros animales, comprobaríamos que ella guarda una proporción definida con la plasmolisis; mas en la imposibilidad de demostrar *esta vista teórica*, sólo nos es dable sentar que experimentalmente se comprueba que el estudio comparativo del macerado del plasma del conejo y perro normal con el del perro y conejo tratados previamente con las inyecciones salinas, acusa en estos últimos, en igualdad de condiciones, una mayor energía bacteriolítica.

*
* *

Sintetizando ahora, en brevísimo resumen, las ideas culminantes expuestas en este trabajo, nosotros vemos que las inyecciones salinas á dosis masivas aumentan las resistencias de los conejos á las infecciones carbuncosas y estreptocócicas. Probablemente ocurrirá lo mismo con otras infecciones. Semejante fenómeno hiere la imaginación por lo maravilloso é inesperado ; mas cuando escudriñamos su causa ó condiciones determinantes la hallamos en el *efecto fisiológico* de las inyecciones salinas que liberan de los plasmas celulares una gran cantidad de alexinas que aumentan la potencia bactericida de los humores y ponen á los mismos plasmas en condiciones de mayor resistencia ya que se hacen más solubles. Supuesto que todos los plasmas orgánicos son *in vitro* bactericidas á condición de hacerlos solubles, hecho tan patente y claro que no cree-

mos pueda nadie impugnar experimentalmente, el acrecentamiento de las resistencias orgánicas se explica satisfactoriamente por la acción plasmolítica de las inyecciones salinas. Lealmente reconocemos que esa acción no hemos sido nosotros los primeros en descubrirla ; flota en el ambiente de la ciencia como una de esas verdades ya maduras destinada á una integración definitiva. Nosotros nos hemos limitado á estudiarla y comprobarla desde un nuevo punto de vista relacionándola con el proceso fisiológico de la inmunidad natural. Y así hemos visto que en el organismo ocurre un fenómeno análogo á los que pasan *in vitro* al macerar pulpa esplénica, renal, coágulo sanguíneo, etc., que acusan una energía bacteriolítica de la que no daban muestra cuando no eran solubles. La inmunidad natural (entendiendo por ella el conjunto de resistencias que el organismo opone á la infección y no únicamente el estado refractario) es debida en ultimo análisis al mecanismo en virtud del que se hacen solubles y por ende activos plasmas que poseen propiedades bacteriolíticas. El cobaya no se comporta ante el carbunco como un matraz de caldo, opone resistencias á la proliferación del formidable parásito, muy débiles, pero vivas ; mayores las opone el conejo, crecen en el carnero, suben de punto en el buey y más todavía en el hombre, hasta llegar al máximum en el perro. Los grados de inmunidad ó medios de defensa orgánicos dependen fundamentalmente de la potencia bacteriolítica de las células y los humores, y esa potencia está en razón directa de su grado de solubilidad ; si un tejido se espesa de modo que sus enzymas sean escasamente difusibles, disminuyen sus medios de defensa ; si se coagula, se anulan é *ipso facto* queda indefenso. En cambio, si nada cohibe la potencia osmótica de los plasmas celulares y ceden á los humores con facilidad substancias derivadas dotadas de energías proteolíticas, difícilmente se implantarán en ellas bacterias infectantes y con dificultad germinarán en los humores ya que su potencia bactericida guarda una estrecha proporción con la energía fisiológica de las células de que originariamente emana. Así vemos que aumentando artificialmente la solubilidad de los plasmas del conejo, este animal se comporta ante el carbunco como el perro mientras dura este artificio experimental ; una vez extinguido, mientras el perro sigue conservando medios de defensa extraordinarios, el conejo, vuelto á su tono fisiológico normal, sucumbe fácilmente.

En el fondo, el mecanismo de la inmunidad natural es todo lo contrario del mecanismo de la infección; son como dos procesos opuestos, *pues el organismo se infecta por su coagulabilidad* y *se defiende por su solubilidad.*

EL RETÍCULO NEUROFIBRILAR EN LA RETINA

POR

S. RAMÓN CAJAL (1)

(Con una lámina litografiada).

Aunque el problema de las conexiones intercelulares está para nosotros definitivamente resuelto hace tiempo en el sentido de la doctrina neuronal (puesto que la indepedencia celular se ha comprobado, tanto con los métodos de coloración plasmática como con los neurofibrilares), creemos que no será empresa supérflua renovar el examen de esta cuestión en la retina, órgano nervioso singularmente apropiado bajo este respecto, á causa de la simplicidad y regularidad de la disposición de sus neuronas y del conocimiento que tenemos de la marcha de las corrientes á través de las capas retinianas.

En semejante empeño nos han precedido ya, Embden (2) y Vogt (3), sobre todo el primero, que aplicó ventajosamente á la retina del caballo el dificilísimo é inconstante proceder de Bethe. Dicho autor logró colorear las neurofibrillas, tanto en las células gangliónicas, como en las horizontales de la retina, describiéndolas según el esquema teórico del fisiólogo de Strasburgo, es decir, como filamentos independientes, de los cuales unos pasarían de una dendrita á otra, cruzando el soma por entre los grumos cromáticos, en tanto que otros marcharían desde las expansiones protoplásmicas al cilindro-eje. Disposiciones reticuladas, intercelulares ó pericelulares, por cuyo medio se establecieran comunicaciones directas entre las neuronas, no han sido halladas por Embden, lo que no habla, naturalmente, en favor de la teoría de las redes intercelulares.

(1) Este trabajo ha sido ya publicado en alemán en el *Intern. Monatschsfl. f. Anat. u. Pysiol.*, Bd. XXI, n.° extraordinario (4-8) destinado á honrar y conmemorar el 50 aniversario del doctorado del profesor é ilustre histólogo, Dr. W. Krause.

(2) *Embdem:* Primitivfibrillenverlauf in der Netzhaut, *Arch. f. mikros. Anat.* &. Bd. 57, 1901.

(3) *Vogt*: *Neurol. Centralbl.*, 1901, p. 1061. *Versamnl. mittendeutscher Psychiatr. u. Neurol. a. October*, 1901. Jena.

(4) *Van der Stricht:* La nouvelle méthode de Ramón Cajal, son applicàtion à la retine. Gand, 1904.

La importancia del tema, nos condujo hace algunos meses, con ocasión del encuentro de un nuevo proceder de impregnación argéntica, á examinar la textura de los corpúsculos retinianos (1). Y en una extensa memoria consagrada á las neurofibrillas en general, mencionábamos ya que el nitrato de plata reducido, pone en evidencia, colorcándolo en café ó marrón, el retículo de las células gangliónicas grandes y de mediano volumen, fallando solamente la reacción en las pequeñas amacrinas, los elementos bipolares, los conos y bastoncitos. En la retina de los pájaros logramos impregnar también las fibras centrífugas, las amacrinas de asociación, así como muchos corpúsculos ganglionares de retículo flojo y sobrio en filamentos. En fin, en el citado trabajo llamábamos la atención sobre algunas ventajas que el susodicho proceder de argentación lleva al de Bethe, toda vez que consiente el estudio de cortes retinianos espesos (lo que facilita singularmente la persecución de los cilindros-ejes y largas dendritas) y se obtienen buenos resultados, tanto en las gruesas (caballo, perro, vaca), como en las finas retinas (cavia, conejo, rata), lo mismo en las adultas que en las embrionárias (animales de pocos días).

Poco tiempo después de la aparición de nuestra monografía de conjunto sobre el retículo neurofibrilar, y sin tener conocimiento de nuestras observaciones, utilizó también van der Stricht el proceder de nitratación recomendado por nosotros, logrando poner de manifiesto el retículo de las células gangliónicas, espongioblastos, corpúsculos horizontales y hasta células bipolares de los pequeños mamíferos. En casi todos estos elementos reconoció dicho autor redes intracelulares de neurofibrillas, dispuestas á menudo. como nosotros habíamos reconocido en otros centros nerviosos, en dos zonas concéntricas endoplásmica y exoplásmica. En cuanto á las dendritas constitutivas de las capas plexiformes, resultan, según el sabio belga, de la reunión en haces densos de neurofibrillas procedentes del retículo intracelular. En su sentir, las anastomosis intercelulares faltan completamente.

En fin, durante la impresión de la edición alemana de este trabajo, apareció también una interesante comunicación de G. Sala (2), en la cual, aplicando nuestro proceder, reveló las neurofibrillas de varios corpúsculos retinianos, señalando entre otros detalles ciertas conexiones específicas entre las células horizontales y los capilares sanguíneos.

En el trabajo actual nos proponemos desarrollar y detallar la dema-

(1) *S. R. Cajal*: Un sencillo método de coloración selectiva del retículo protoplasmático y sus efectos en los diversos órganos nerviosos. *Trab. del Lab. de investigaciones biológicas*, tomo II, 1903, fasc. IV.

(2) *Guido Sala*: Contributo allo studio della fina struttura della retina. *Boll. de la Societá Medicho-chirurgica di Pavia*. Giugnio, 1904.

siada abreviada descripción dada por nosotros en el susodicho trabajo de conjunto, añadiendo algunas consideraciones fisiológicas sobre el oficio probable de las neurofibrillas retinianas. Cumple además á nuestro propósito, llamar la atención de los autores sobre la facilidad con que se consiguen, á favor del nitrato de plata reducido, imágenes satisfactorias, tocantes á la morfología y disposición de muchos corpúsculos retinianos, imágenes que confirman y completan en algunos puntos las revelaciones clásicas de los métodos de Golgi y Ehrlich.

Nuestro proceder de impregnación colorea casi constantemente estas tres clases de elementos retinianos:

Células ganglionares (*ganglium optici*) con las fibras ópticas; los *espongioblastos ó corpúsculos amacrinos* y las *células horizontales*. De vez en cuando, se impregnan también algunos elementos bipolares.

CÉLULAS GANGLIÓNICAS Y FIBRAS ÓPTICAS

Según es bien sabido, la capa de las células ganglionicas comprende tres especies de elementos: células ganglionares grandes, células ganglionicas medianas y pequeñas, y amacrinas dislocados, señaladas hace algunos años por nosotros (1).

a) Células ganglionicas gigantes.—Poco numerosas en la retina de los pequeños mamíferos, tales corpúsculos se impregnan muy bien, mostrando claramente, según reconocieron hace tiempo Max Schultze, W. Krause y recientemente Dogiel y Embden, textura fibrilar. El nitrato argéntico presenta el retículo neurofibrilar teñido en café obscuro ó rojo moreno, y dispuesto del mismo modo que en los corpúsculos motores de la médula espinal, es decir, distribuído en hacecillos plexiformes, situados entre los grumos cromáticos y continuados con los filamentos de las dendritas y axon (fig. 12).

No es cómodo analizar las neurofibrillas de este tipo celular cuando el armazón es demasiado complicado, según ocurre en la retina de los grandes mamíferos (caballo, buey, carnero). En estos animales, semejantes células alcanzan talla considerable, ofreciéndose, por consiguiente, mutiladas si las secciones son finas, y harto obscuras y poco apropiadas á un buen examen en los cortes espesos. Así que nosotros preferimos para el análisis del retículo los elementos de igual categoría, pero mucho menos voluminosos de la retina del gato, cavia y conejo, en cuyo protoplasma (fig. 3) es frecuente notar, sobre todo en la vecindad nuclear, que las neurofibrillas se anastomosan á favor de filamentos pálidos ó secundarios.

(1) *S. Ramón Cajal*: Nouvelles contributions à l'étude histologique de la retine, &. *Journ. de l'Anat. et de la Physiol.*, 32 année, n.° 5, 1896.

Si en algunos casos la disposición reticulada es difícil de apreciar, ello resulta de la concentración de las neurofibrillas en los intersticios intercromáticos, donde engendran haces apretados, cuyas mallas, demasiado próximas, escapan á la observación.

Cuando en vez de una célula rica en grumos de Nissl recae la observación en una pobre en cromatina (fig. 3), se percibe cierta disposición del retículo, repetidamente mencionada por nosotros en la médula, cerebro, cerebelo, etc., y confirmada por van der Stricht en la retina. Consiste en la existencia de dos retículos neurofibrilares: uno espeso, colocado en torno del núcleo y designado *plexo perinuclear*, y otro más flojo y robusto, emplazado en la capa cortical ó exoplásmica (casi todo el protoplasma) y conocido con el nombre de *retículo cortical ó exoplasmático*. Repárese, además, que cada plexo resulta de la ramificación de ciertos hacecillos convergentes llegados del axon y dendritas. A veces, se reconoce que las neurofibrillas destinadas á la red perinuclear son espesas y cruzan reunidas en haz denso la porción cortical ó exoplásmica (fig. 3, *b*), mientras que las consignadas al plexo cortical afectan mayor delicadeza y se resuelven inmediatamente de su llegada en un plexo difuso y de anchos espacios (fig. 4, *b*).

A medida que las recias dendritas se alejan de la célula, sus neurofibrillas se aproximan sucesivamente, constituyendo un manojo denso que gana la capa plexiforme interna, en donde se divide repetidamente, engendrando largas ramas horizontales emplazadas en los bien conocidos estratos ó pisos de esta zona. Durante su trayecto, así como al nivel de sus divisiones, dichas ramas dendríticas presentan varicosidades y ciertas dilataciones en donde las neurofibrillas parecen algo desagregadas. A la altura de las dilataciones angulares ó divisorias, aparece á menudo la presencia de pequeños quiasmas, difíciles de analizar á causa de la delgadez y proximidad de sus neurofibrillas. Sin embargo, en algunos casos favorables (fig. 13) adviértese que al nivel de las bifurcaciones no hay tan sólo separación de filamentos, sino verdaderas divisiones de éstos y hasta reticulaciones complejas. Sin duda por consecuencia de este hecho, particularmente reconocible en las bifurcaciones vecinas al soma, ha supuesto Embden la existencia en el ángulo agudo de las divisiones protoplásmicas, de neurofibrillas arciformes, las cuales pasarían libremente de una rama á otra sin contraer conexiones con el cuerpo celular.

En cuanto á las últimas y finas ramillas dendríticas, parecen componerse exclusivamente de una neurofibrilla, dado que ofrecen gran delicadeza y aspecto absolutamente homogéneo. Las divisiones secundarias y terciarias tendrían por objeto, pues, la dispersión de las neurofibrillas aferentes. Si esto no ocurre en las divisiones primarias (donde según

acabamos de ver hay anastomosis y no simple apartamiento de hebras), ello se debe á que, en realidad, los tallos originarios protoplásmicos conservan aún la estructura y significación fisiológica del protoplasma celular.

Por lo demás, el estudio de conjunto de los plexos dendríticos de la capa plexiforme interna, puede hacerse facilísimamente en los gruesos cortes retinianos. Según cual sea la región de la retina examinada, percíbense (conejo, gato) tres, cuatro ó más pisos de arborización protoplásmica (fig. 1, lám.). Si en vez de secciones perpendiculares se exploran los horizontales (fig. 11), se observa en cada piso ó plano de arborización un plexo mixto, muy complicado, compuesto de un corto número de dendritas espesas procedentes de ganglionares gigantes, y gran cantidad de prolongaciones finas y pálidas, pertenecientes á corpúsculos gangliónicos medianos y pequeños. De trecho en trecho, este plexo tan intrincado reserva ciertos espacios claros, ovales ó redondeados, por los cuales pasan las fibras de Müller (fig. 11, *a*).

Excusado es decir que las gruesas anastomosis interdendríticas señaladas por Dogiel (1), así como las parejas celulares (ganglionares gemelas unidas por un puente) descritas por Greeff (2), no se presentan en nuestros preparados. Importa hacer notar que si tales uniones existieran positivamente, deberían mostrarse claramente en nuestros espesos cortes horizontales de la retina, donde se hallan intensa y completamente impregnados centenares de elementos gangliónicos. Por otra parte, recordemos que ni Ebmden, ni van der Stricht, ni Guido Sala, han logrado sorprender tamañas anastomosis intercelulares.

Por lo que toca al axon, se le reconoce cómodamente, mayormente cuando la sección es horizontal y paralela á las fibras del nervio óptico. Conforme se sabe, nace á menudo de un lado del cabo inferior del soma ó del origen de una dendrita, y desciende á la capa subyacente, ingresando, bien directamente, bien tras un itinerario de dirección transversal á las fibras ópticas, en algún fascículo constituído por éstas. En ningún caso se observan en su trayecto ramillas colaterales ni divisiones. Al nivel de su cono originario, reconócese á veces la convergencia de grupos de neurofibrillas, emanadas de ambos plexos intracelulares (fig. 3, *a*). Con todo, semejante particularidad no es fácilmente apreciable en los

(1) *Dogiel:* Ueber die nervösen Elemente in der Netzhaut des Menschen. *Arch. f. mihros. Anat.* Bd. 38, u. 40, 1891-1892.

(2) *R. Greeff*: Die mikroscopische Anatomie des Sehnerven und der Netzhaut. *Handbruch der Augenheilkunde.* 2 Aufl. 1 Bd., 1899.

— Ueber Zwillingsganglienzellen in der menschlichen Retina. *Arch. f. Augenheilkunde.* Bd. 35, 1897.

corpúsculos gigantescos de los grandes mamíferos, á causa de la riqueza y complicación del aparato neurofibrilar (fig. 12, *a*).

Una de las cosas más fáciles de estudiar en nuestros preparados, es el curso de las fibras ópticas, particularmente en los cortes gruesos horizontales, en los cuales se las sigue desde el origen en las células hasta bien entradas en los hacecillos de la capa fibrilar. En su mayoría, afectan tales fibras aspecto varicoso, como en los preparados de Ehrlich y de Golgi, y sus neurofibrillas yacen tan próximas y apretadas que es casi imposible distinguirlas. Sin embargo, percíbense, aunque nunca tan bien como en las dendritas, en los robustos axones de las ganglionares gigantes. Repárase también que casi todas las fibras ópticas se ordenan en haces radiales, aunque no faltan jamás axones que caminan en direcciones variadas, y hasta orientadas en sentido transversal á los cordones nerviosos. Tarde ó temprano, empero, acaban por incorporarse á uno de estos fascículos.

b) *Células ganglionicas medianas y pequeñas.*— A causa sin duda de su flojedad y delicadeza, el retículo de tales elementos no ha sido reconocido por Embden, cuyo método (el de Bethe) impregna únicamente las fibrillas primarias, relativamente espesas, del tipo celular gigante ó fasciculado. En cambio, ha tenido más fortuna van der Stricht, quien le ha observado sirviéndose de nuestro proceder, describiéndolo como una rejilla delicada, especialmente concentrada por encima del núcleo, paraje del protoplasma en donde se halla (en el conejo y cavia) un plexo denso, complicadísimo y obscuro de neurofibrillas, punto de concurrencia de los haces destinados á las dendritas.

En efecto, según revela la fig. 1, *b*, *c*, *d*, buena parte de los citados elementos exhiben dos regiones protoplásmicas muy diferentes: *inferior* muy delgada que encierra algunas neurofibrillas, dispuestas en redes de amplias mallas convergentes en el cono de origen del axon; y *superior* ó supranuclear, donde se reunen y entremezclan, tanto los contingentes neurofibrilares llegados del axon, como las procedentes de las dendritas, generando un fieltro de aspecto inestricable (fig. 8, *a*). En este intrincado plexo, menciona van der Stricht un punto claro que estima como representación del centrosoma, órgano no claramente manifiesto en nuestros preparados.

La citada región protoplásmica infranuclear, conviene perfectamente por su gran delgadez (conejo) para el análisis del retículo neurofibrilar. Según puede advertirse en la fig. 1, *a*, *c*, hállanse en aquella dos especies de filamentos: gruesos, de dirección meridiana, algo flexuosos, los cuales marchan desde el montón filamentoso hasta el axon, y finos y pálidos enlazados con los precedentes y dispuestos en una reja ó red aplanada de

mallas poligonales ó irregulares. Representan verosímilmente los primeros las neurofibrillas primarias, mientras que los segundos corresponden á las neurofibrillas secundarias ó accesorias, señaladas por nosotros en otros centros nerviosos.

Naturalmente, la perfecta apreciación de estos detalles, demanda el enfocamiento escrupuloso de la capa superficial del protoplasma. Cuando se enfoca la región central nuclear, sólo es posible percibir el plexo ó montón filamentoso supranuclear (fig. 1, *b*, y fig. 8).

No es raro sorprender en algunas células un espacio periférico claro, desprovisto de *reticulum* ó recorrido por tal cual hilo flexuoso, granuloso, y como encogido. La aparición de estas vacuolas superficiales que mostramos en la fig. 8, *d*, parécenos representar un fenómeno artificial, debido á la violencia de los fenómenos endosmósicos. Distendida por el aflujo del líquido, la membrana podría llegar á estallar. Por lo demás tales alteraciones se encuentran, á menudo, cuando se emplean para el fijado de las piezas soluciones argénticas muy diluídas.

En cuanto á las dendritas, en número variable, fórmanse por la reunión de pocas neurofibrillas, las cuales, aproximándose dentro de las expansiones, generan un cordón homogéneo y refractario al análisis. Estos cordones tórnanse notablemente delicados, y después de ganar la capa plexiforme interna, se dividen repetidamente, adoptando las ramas dirección horizontal.

Por lo que hace al axon, muy fino por cierto, se diría compuesto solamente de dos ó tres neurofibrillas; desciende directa ú oblícuamente á la capa de las fibras ópticas, entre las cuales se pierde.

Ocioso es advertir que entre las gruesas y pequeñas células ganglionicas, existen todas las gradaciones morfológicas y estructurales. Nada tendría de extraño que los más diminutos corpúsculos de esta categoría ganglionar no seleccionaran el nitrato de plata ó que fijaran harto débilmente el reactivo para exhibir su contenido neurofibrilar.

c) *Amacrinas dislocadas.* — Conforme hemos afirmado en otro trabajo (1), la zona gangliónica encierra, además, ciertos espongioblastos ó amacrinas dislocadas, cuya morfología y disposición coinciden completamente con los elementos de igual nombre residentes en la zona de los granos internos. El nuevo método colorea, de vez en cuando, tales corpúsculos que se caracterizan por la delgadez de la capa protoplásmica perinuclear y la sutileza de las expansiones ascendentes. El retículo, de matiz café claro, consiste en una capa de raras y finas neurofibrillas dis-

(1) *S. R. Cajal : Journ. de l'Anat. et de la Physiol.*, 1896.

— Véase también: Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados, tomo II, 1903.

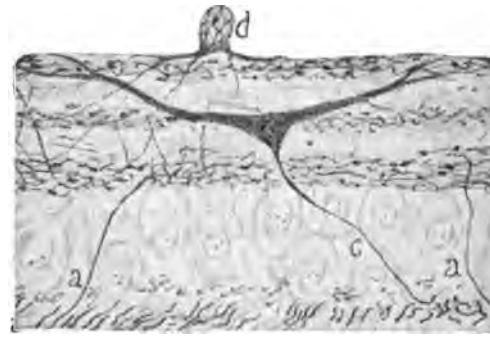
puestas en red, de anchas mallas, algo prolongadas en el sentido perpendicular á la retina. Tan delgadas son las expansiones ascendentes destinadas á la capa plexiforme interna, que no es posible determinar si constan de varias ó de una sola neurofibrilla.

Para acabar con el estudio de los corpúsculos gangliónicos, añadiremos que en nuestros preparados de la retina del conejo se nos han mostrado con relativa frecuencia fibrillas finas que marchaban directamente desde la capa de fibras del nervio óptico (figura del texto), hasta la zona plexiforme interna, donde se perdían, haciéndose horizontales. En la figura adjunta mostramos también un corpúsculo gangliónico dislocado, yacente en el piso medio de la zona plexiforme, y cuyo axon siguióse fácilmente hasta las fibras ópticas.

CAPA DE LAS CÉLULAS AMACRINAS

La cantidad de corpúsculos impregnables en esta zona es inferior á la de la capa gangliónica; sin embargo, redúcese constantemente el nitrato de plata en un cierto número de elementos, de ordinario pertenecientes á las variedades de grande y mediana talla.

En las figuras 1.ª y 2.ª reproducimos los elementos de esta categoría



Retina del conejo. — *a*, fibras nerviosas penetrantes en la capa plexiforme interna (piso inferior); *c*, axon de una ganglionar intersticial ó dislocada; *d*, amacrina.

más frecuentemente visibles en nuestros preparados. Cabe clasificarlos en dos tipos: grandes y pequeños.

a) Tipo voluminoso (fig. 1, *f*).— Poco abundante, afecta comunmente figura semilunar ó mitral. Casi desprovista de neurofibrillas la porción superior del protoplasma, éstas se concentran en la porción inferior ó intranuclear, ordenándose en un robusto haz que se extiende horizon-

talmente de la una á la opuesta expansión. Tales prolongaciones alcanzan bastante espesor, nacen de los polos del soma, y tras alguna división, se descomponen en el seno de la capa plexiforme interna en largas ramas horizontales, repartidas, por lo menos, en dos pisos concéntricos. El aspecto fasciculado de cada dendrita consérvase durante largos trayectos en algunas células (fig. 1, *f*).

b) *Tipos medianos y pequeños* (fig. 1, *e*, *g*). — Afectan diversidad de formas, dominando la elipsoidea y en pera. A semejanza de las células gangliónicas poco voluminosas, la porción principal del retículo se reune debajo del núcleo, el cual constituye por sí solo casi toda la parte superior del soma. En la delgada corteza del protoplasma supranuclear, percíbese una red de mallas poligonales, algo alargadas, en sentido perpendicular á la retina. No es raro encontrar entre las trabéculas de esta especie de cesta neurofibrilar, algunos hilos más robustos, que, rodeando vertical ú oblícuamente el cabo nuclear superior, desembocan en las expansiones descendentes. Por lo demás, estos últimos apéndices son delicados y resultan de la convergencia de algunas neurofibrillas; tórnanse luego cordones homogéneos y se extienden y dicotomizan por los diversos pisos de la capa plexiforme interna.

Además de las amacrinas ordinarias, impregna el nitrato de plata las células intersticiales de la capa plexiforme interna, cuyas expansiones horizontales, ricas en neurofibrillas, poseen los rasgos propios de las dendritas. Probablemente representan amacrinas dislocadas.

En los pájaros de algunos días, se consigue colorear también los corpúsculos mitrales ó células gangliónicas dislocadas, situadas, según se sabe, entre los elementos amacrinos.

CÉLULAS HORIZONTALES

Según Embdem, semejantes elementos encierran prodigiosa cantidad de neurofibrillas coloreables por el método de Bethe, y las cuales se disponen en hacecillos apretados á la manera de los alojados en los corpúsculos motores de la médula espinal. También van der Stricht y G. Sala han descrito las neurofibrillas de tales corpúsculos.

Tratadas por el procedimiento del nitrato de plata, imprégnanse estas células con gran constancia en todos los mamíferos, bien de color rojo ladrillo, bien de café claro, ya, en fin, de matiz marrón obscuro. Depende el color de la fórmula fijadora utilizada; mas en todo caso, el matiz de las neurofibrillas de las citadas células horizontales afecta una tonalidad más roja que el retículo de los restantes corpúsculos retinianos.

Cuando la impregnación es completa, los corpúsculos horizontales

componen en la zona plexiforme externa un plexo de una complicación y de una riqueza excepcionales. A menudo, el análisis estructural resulta penoso y hasta imposible, á causa de que las expansiones dendríticas numerosas, superpuestas y entrelazadas complicadamente, engendran una urdimbre densa y apretada, ausente solamente al nivel de ciertos pequeños huecos redondeados y ovoideos correspondientes, conforme se sabe bien (gracias á las investigaciones de los histólogos antiguos, y especialmente de W. Krause), á las porciones superiores de las células bipolares y á la sección óptica de las fibras de Müller. Fuerza es escoger, para efectuar el estado textural, aquellos territorios de la capa plexiforme externa, donde figuran teñidas de manera exclusiva algunas pléyades de células horizontales, según se mostraban, por ejemplo, en el corte horizontal reproducido en la fig. 9.

Fíjase indiferentemente la plata reducida socre todos los tipos de corpúsculos horizontales, á saber: *a*) células horizontales internas, comunmente muy voluminosas; *b*) iguales elementos, pero provistos, además, de robusta dendrita descendente; *c*) elementos horizontales externos muy aplanados y de exíguo volumen; *d*) en fin, células horizontales externas, notablemente robustas, guarnecidas de larguísimas y acintadas dendritas tangenciales.

En nuestras preparaciones muéstranse de preferencia estas últimas células.

Toda vez que la morfología y conexiones de los citados elementos son actualmente harto conocidos, gracias á las investigaciones de W. Krause, Tartuferi, nosotros (1), Dogiel, Kallius, etc., limitarémonos aquí á exponer algunos detalles concernientes á la disposición de las neurofibrillas y á la organización de los plexos dendríticos terminales.

Aun cuando todos los elementos horizontales encierran caudal considerable de neurofibrillas, prestándose, por consiguiente, mal á la observación individual de éstas, deben preferirse para el estudio las horizontales externas, por exhibir un soma delgado y complanado, extendido en lámina transversal colocada inmediatamente por debajo de los cabos inferiores de conos y bastones. En tales células aparecen las neurofibrillas, muy delicadas, con aspecto algo granuloso, y separadas por una pequeña cantidad de citoplasma completamente incoloro. Al objeto de discernirlas bien, es menester enfocar, no la región del núcleo, sino la capa supranuclear donde reside el protoplasma fibrilado. Si las condiciones de la célula son favorables, pueden notarse en este plotoplasma dos regiones algo diferentes: central, inmediata al núcleo, relativamente pobre en

(1) *Cajal*: La rétine des vertebrés. *La cellule*. 1892.

neurofibrillas y abundante en citoplasma incoloro; y periférica, mucho más extensa, constituída por haces muy compactos de hebras, que parecen pasar directamente, como ya reconoció Embdem, de una dendrita á otra, cruzando el soma más ó menos periféricamente. En estos manojos de paso, así como en las dendritas, las hebras son tan sutiles y próximas, que no hay posibilidad de averiguar su verdadera disposición.

Bastante más propicias al análisis de la disposición de las neurofibrillas, se presentan las células horizontales un poco embrionarias del gato y del conejo de algunos días (fig. 10), las cuales ofrecen, por esta época, un retículo más flojo y pobre en elementos, que deja percibir mejor los intersticios ó vacíos interfibrilares. En tales juveniles corpúsculos consíguese apreciar, al nivel del plexo perinuclear, neurofibrillas flexuosas de variable espesor, las cuales se anastomosan entre sí, produciendo una red irregular, á veces cruzada por haces de filamentos primarios.

Por lo que toca á los filamentos de las dendritas, continúanse, reunidos en manojos apretados, hasta las últimas ramillas, en donde aparece solamente una neurofibrilla horizontalmente prolongada. No hay posibilidad de ver anastomosis entre filamentos ó haces procedentes de corpúsculos inmediatos. Es frecuente reparar que los manojos originarios de neuronas diferentes, se adhieren entre sí, marchando en dirección opuesta ó cruzándose en ángulos agudos, pero sin contraer relaciones más íntimas que el contacto ó la yuxtaposición.

Difícil es determinar el modo de acabamiento de las más delicadas ramillas dendríticas. Su extrema delgadez, débil coloración (fig. 9, *c*) y complicación extrema de itinerario, constituyen obstáculos insuperables para esta observación. Presumimos, empero, que se terminan en plena zona plexiforme, en la inmediación de los cabos inferiores de conos y bastones, por extremos pálidos y libres.

También se impregnan constantemente las grandes células horizontales internas y externas; mas, como se ha dicho, el excepcional espesor de sus brazos protoplásmicos y la dimensión notable del protoplasma supranuclear, se prestan mal á una exploración satisfactoria. Conforme puede verse en la fig. 1, *h*, *j*, el soma voluminoso de las neuronas horizontales internas forma robusta eminencia, que abulta entre los granos internos, y que está en gran parte rellena por el núcleo. De ordinario, prefieren las neurofibrillas la región supranuclear del soma, de donde emanan los robustos troncos protoplásmicos tangenciales. Solamente cuando se trata de corpúsculos de expansión dendrítica descendente, aparece por debajo del núcleo espesa capa neurofibrilar.

Cosa curiosa es la imposibilidad de hallar las ramitas digitiformes ascendentes, que el método de Golgi revela en las últimas ramas protoplás-

micas de los corpúsculos horizontales internos. Esta ausencia sugiere la idea de que acaso puedan existir ramos dendríticos finos, exclusivamente formados de citoplasma. De hecho, el conjunto de la arborización neurofibrilar, tanto en la retina como en otros centros nerviosos, es siempre más pobre que el mostrado por los preparados de Golgi. Sin embargo, y por lo que respecta á las susodichas ramillas ascendentes de la retina, pudiera su ausencia depender de un defecto de impregnación, pues en algunas preparaciones se divisan, aunque con rareza, algunos apéndices finos verticales, ya mencionados por Embdem, y los cuales corresponden acaso al eje de los más gruesos ramos digitiformes de las impregnaciones de Golgi.

En cuanto al axon de los elementos horizontales grandes, brota del soma, ó más frecuentemente aún, de gruesa dendrita (fig. 10, *a*, y 9, *a*) y se le reconoce por su delgadez relativa, la densidad del haz neurofibrilar que contiene, y por su color (de ordinario más obscuro que el de las dendritas) intenso, un poco más allá del cono inicial. Por desgracia, á cierta distancia de su origen, esta expansión palidece progresivamente, resultando imposible su total persecución. De todas maneras, su modo de terminación se conoce bien, según demostramos nosotros hace tiempo (1) en los preparados de Golgi (proceder del enrollamiento y doble impregnación) y confirmaron Kallius (2) y otros autores.

Este mismo fenómeno de palidez impide asimismo perseguir el fino cilindro eje de las células horizontales externas. Bajo este aspecto, el método de Bethe no es más eficaz que el nuestro, á juzgar por las descripciones y figuras de Embdem.

Plexos dendríticos. — Una de las disposiciones retinianas puestas en relieve por el nitrato de plata, es el importante plexo dendrítico horizontal, situado en el espesor de la capa plexiforme externa, y conocido hace tiempo por las investigaciones de muchos sabios.

En nuestros preparados (cortes perpendiculares sobre todo), adviértense dos plexos protoplásmicos superpuestos: *plexo interno*, muy espeso formado por el entretejimiento de colosales brazos nacidos en las voluminosas células horizontales internas y en los más robustos tipos de corpúsculos horizontales externos (fig. 1, *h*); y *plexo externo*, compuesto de la reunión y entrelazamiento de ramas, así como de las últimas ramillas más ó menos ascendentes de los elementos horizontales internos (figura 1, *i*).

Las trabéculas del plexo interno son anchas, á veces más voluminosas

(1) *Cajal*: La retine des vertebrés. *La cellule*, 1892.

(2) *E. Kallius*: *Ergebnisse der Anat, u. Entwickelungsgesichte vom Fr. Merkel u. Bonnet.* X. Band. 1894.

todavía que el soma celular de que proceden, lo que presta á las células horizontales un aspecto singular, de que no dan exacta idea los preparados de Ehrlich y Golgi. Caracterízanse también por la presencia de dilataciones angulosas, especie de quiasmas, en los cuales tienen lugar las bifurcaciones más importantes, y por ofrecer lateralmente elevaciones triangulares, punto de partida de las delgadas ramas secundarias. Todos los referidos brazos ó trabéculas voluminosas cambian frecuentemente de dirección, recordando, por la manera de ramificarse, el asta del ciervo, y se dirigen hacia otros troncos protoplásmicos emanados de corpúsculos análogos, generando, en fin, un plexo de grandes mallas poligonales, dentro de las cuales queda inscrito otro plexo de más exíguos espacios constituído por las ramas secundarias brotadas de las voluminosas trabéculas. En dicho plexo de recios tallos es donde se dan las más engañosas apariencias de anastomosis intercelulares. Estos pretendidos puentes de unión señalados por Dogiel, Renaut, Embdem y otros, no resisten, sin embargo, al examen con un buen objetivo de inmersión homogénea, el cual revela, durante los enfocamientos escrupulosos, la existencia de ramos protoplásmicos estrechamente yuxtapuestos durante largos trayectos, cruzamientos en ángulos muy agudos, íntimos contactos y engranajes, pero jamás la realidad de una continuidad de substancia entre expansiones ó neurofibrillas nacidas en células diferentes. Bajo este respecto, muéstrase el método de coloración de las neurofibrillas mucho más eficaz que el de Golgi y Ehrlich, toda vez que estos procederes, y sobre todo el último, adolecen ocasionalmente del defecto de colorar el cemento intercelular en aquellos parajes donde las dendritas se tocan íntimamente, simulando, por tanto, bajo una observación poco atenta, relaciones de continuidad substancial. Muy de otra manera se comportan los preparados de neurofibrillas: cualquiera que sea la proximidad de los manojos dendríticos de origen diverso, apréciase que existe constantemente interpuesta entre los mismos alguna substancia clara (la membrana y el citoplasma superficial) que impide el contacto de las neurofibrillas contiguas. Naturalmente para no caer en errores de observación, son necesarios el objetivo 1'30, ó mejor aún el 1'40 Zeiss, apocromáticos. En la fig. 9 presentamos estas apariencias de anastomosis que sólo pueden extrañar al observador desprevenido ó distraído.

El *plexo superficial ó externo* es más delgado y rico, yaciendo inmediatamente por debajo de los piés de los conos y bastones.

Resulta del entretegimiento de las últimas ramas de las células horizontales internas conjuntamente con las expansiones de los elementos horizontales externos menos voluminosos. Es muy fácil de ver en los cortes horizontales dicho plexo, gracias al tono ó color adquirido, tono

mucho más intenso que el tomado por los recios trabéculos protoplásmicos del plexo interno ó profundo (fig. 9, *c*). Nótase también que una parte del plexo fino reside á veces sobre la superficie misma de las voluminosas células horizontales, de quienes destaca bien por el contraste de matiz.

Por de contado que tampoco en este plexo más delicado, se perciben anastomosis. Por donde la reja de finas trabéculas descrita hace tiempo por Dogiel, nos parece constituir mera apariencia del método de Ehrlich. Tampoco Embdem y van der Stricht las han observado.

OTROS ELEMENTOS RETINIANOS

De ordinario resístense á la impregnación argéntica los conos y bastoncitos, los cuerpos de las células visuales y los corpúsculos bipolares. Todos estos elementos aparecen teñidos uniformemente en amarillo transparente, constituyendo un fondo sobre el cual destacan los otros factores retinianos que seleccionan intensamente la plata.

Sin embargo, si á ejemplo de van der Stricht se emplean como fijadoras soluciones argénticas fuertes (del 3 en adelante por 100) se logra alguna vez colorear las neurofibrillas de las células bipolares, cuya morfología coincide perfectamente con la revelada por los preparados de Golgi y Ehrlich. Las bipolares que nosotros hemos impregnado, así como las visibles en los preparados del citado sabio belga, pertenecen á la categoría llamada *bipolar para cono*.

Menos aleatoria que la precedente es la coloración roja clara, tomada por los artículos internos de conos y bastoncitos (fig. 1, *k*). Semejante impregnación, poco intensiva comunmente, recae preferentemente en la porción superior del cuerpo elipsoide de W. Krause (*Fadenapparat* de M. Schültze) cuerpo enigmático que aparece envuelto en una membrana bien perceptible. Estas preparaciones exhiben además un detalle interesante. En el vértice ó punta periférica del *elipsoide* (conejo, cavia) reconócese, coloreado en café obscuro, un corpúsculo delicado, homogéneo y algo prolongado en sentido radial (fig. 1, *l*). Semejante gránulo, comparable á una bacteria, reside ya en el eje del elipsoide, ya un poco desviado, pero siempre en la proximidad de la membrana.

Nucleolos.—Nuestro proceder de impregnación, sobre todo cuando se emplean soluciones argénticas débiles (0'75 á 1'50 por 100), colorea en negro café unas esférulas situadas en el interior de los nucleolos y correspondientes, *grosso modo*, á las partes del núcleo intensamente teñidas por las anilinas básicas (cromatina, nucleína). Parécenos que no será su-

pérfluo indicar sumariamente cómo se comportan las citadas esférulas nucleolares en las diversas células retinianas (véanse las figuras 1 y 2).

Corpúsculos ganglionicos.—Son los más ricos en esférulas nucleolares, que se disponen á menudo en dos ó tres montoncitos ó pléyades separadas. Por lo común, existe un acúmulo más grande que los otros, donde suelen contarse cinco á siete esférulas. No es raro hallar núcleos donde figuran dos acúmulos granulares, uno grande y otro tan pequeño que sólo se compone de uno ó dos gránulos. Además de tales esférulas intensamente coloreables por la plata, se encuentran otras granulaciones más finas y pálidas, designadas por nosotros provisoriamente, ínterin se demuestre su composición y significación, *cuerpos accesorios.* En cuanto á las pequeñas células gangliónicas, poseen nucleolos menos ricos de esférulas (fig. 1, *b*).

Células amacrinas.—Reconócense por la delicadeza de los nucleolos, en los cuales alójanse á menudo dos ó tres esférulas negras, excepto en los más exíguos elementos, en que sólo se encuentra una. El número de granos aumenta en las amacrinas gigantes.

Bipolares y cuerpos de conos y bastoncitos. — El núcleo de todos estos elementos encierra de ordinario un solo nucleolo, formado por una esférula más robusta en las bipolares que en los elementos visuales (granos de los bastones) (fig. 1). Algunas veces aparecen otros finos gránulos pálidamente impregnados y correspondientes quizás á los cuerpos accesorios. No es raro hallar en los núcleos de los conos más de un nucleolo, y dos ó tres cuerpos accesorios.

Células horizontales.—Encierran, en relación con su volumen, dos ó tres montoncitos de esferas nucleolares. También se ven cuerpos accesorios.

En resumen ; en todos ó casi todos los núcleos de la retina, se impregnan dos clases de esférulas: *a)* nucleolares obscuras ó principales, correspondientes á la materia intensamente coloreable por las anilinas básicas; *b)* esférulas pálidas, esparcidas por el jugo nuclear (cuerpos accesorios), y no coloreables por las tintas básicas. Las primeras, formadas verosímilmente de nucleína ó de algún principio análogo, se disuelven ó alteran notablemente en los álcalis (alcohol amoniacal, por ejemplo), mientras que resisten las segundas. Por punto general, la cantidad de gránulos nucleolares guarda relación con el volumen de la célula ; no así los cuerpos accesorios, cuya existencia es más caprichosa, acaso por su menor afinidad por el nitrato argéntico.

Por lo demás, el tema del nucleolo de la célula nerviosa, sobre el cual han publicado en estos últimos años valiosos datos Levi y Sobotta, dista mucho de estar agotado. Nosotros hemos hallado grandes variaciones se-

gún el animal examinado, y el grado de evolución ontogénica. Interesante sería determinar las leyes reguladoras de tales cambios.

GÉNESIS DE LAS NEUROFIBRILLAS

El modelamiento del protoplasma neuronal en un retículo filamentoso susceptible de atraer selectivamente la plata, es un fenómeno tardío que precede al comienzo de la actividad funcional.

Indicios de retículo coloreable hállanse ya en las células gangliónicas y horizontales de la retina del conejo y gato recién nacidos; pero solamente desde el tercero al cuarto día percíbense claramente las neurofibrillas en los citados elementos. En un principio el armazón filamentoso es muy pobre, y las células, de menor tamaño que las adultas, poseen dendritas cortas y poco ramificadas.

Según puede verse en la figura 2, que reproduce un corte de la retina de un conejo de seis días, el retículo neurofibrilar aparece casi simultáneamente bien constituído en las células gangliónicas, amacrinas grandes y horizontales voluminosas.

Células gangliónicas.—La diferenciación de las neurofibrillas se inicia en los corpúsculos más voluminosos desde el segundo ó tercero día del nacimiento, ó acaso antes, pues por esta época la impregnación es algo eventual. A los seis ú ocho días se presenta ya el retículo bien diferenciado, salvo los pequeños y medianos elementos, los cuales, por este tiempo, todavía conservan un aspecto muy embrionario, como granuloso, sin rastro de retículo filamentoso. En algunos corpúsculos, sin embargo, divísase acá y allá algún hilo granuloso, apenas coloreado. Los nucleolos son en número de tres ó más, y sus gránulos se impregnan en negro.

En las células grandes ó medianas provistas de neurofibrillas aparentes, adviértese que éstas yacen casi exclusivamente en la región supranuclear, exagerándose, por tanto, la disposición que dejamos mencionada al tratar de las células adultas de pequeño volumen. De este plexo ó macizo fibrilar externo, parten cordones ascendentes insinuados en las dendritas, y un delgado hacecillo descendente que, después de costear lateralmente la porción casi desnuda del núcleo, precipítase en el axon, expansión fácilmente seguible hasta la zona de las fibras ópticas. En ciertos elementos (fig. 2, *b*), el cordón destinado al axon parece formado de un solo filamento primario.

En período más avanzado, el retículo inferior ó infranuclear se enriquece, reconociéndose ya algunos hilos sutiles, pálidos y delicados, de dirección oblícua ó transversal, que envuelven un sector lateral, de extensión variable, del núcleo, y se anastomosan con las neurofibrillas descen-

dentes. Llegados á las dendritas, los filamentos ascendentes se condensan de tal manera, que no es perceptible ninguna estriación longitudinal. En la capa plexiforme muéstranse las dendritas irregulares y flexuosas, y exhiben varicosidades causadas quizá por un principio de alteración *post mortem*. Por lo demás, en dicha zona se señalan ya tres ó cuatro plexos dendríticos superpuestos (fig. 2, *j*).

Células amacrinas. — Reconócese análoga disposición en los espongioblastos voluminosos. Como en los corpúsculos gangliónicos, la región opuesta al origen de las dendritas se presenta libre de retículo, que se inicia en el lado inferior del protoplasma, con cuyas expansiones se continúa. En los elementos más adelantados en desarrollo, descúbrese una reja de filamentos distanciados y flexuosos que contornean el soma, y en un estado evolutivo ulterior añádense hilos arciformes que remontan el cabo alto del corpúsculo, dando la vuelta al núcleo.

Mejor que los perpendiculares revelan los cortes horizontales la organización del retículo de los espongioblastos embrionarios. Conforme cabe apreciar en la fig. 5, *a*, este armazón consiste en una placa reticulada de mallas irregulares y angostas, donde convergen, descomponiéndose, neurofibrillas relativamente espesas arribadas de las prolongaciones. A veces, según se ve en la fig. 6, *b*, el retículo se simplifica, pues se compone de un grupo de filamentos que pasan directamente de una á otra expansión. En fin, pueden encontrarse otras disposiciones más ó menos complicadas, caracterizadas sobre todo por la aparición de los filamentos secundarios (figura 7).

Células horizontales.—Desde el cuarto día del nacimiento, preséntanse en los tipos voluminosos de estos corpúsculos (gato, conejo) robustos manojos de neurofibrillas horizontalmente dirigidas, y que parecen ir de una dendrita á otra. De acuerdo con los ejemplos precedentes, las primeras construcciones neurofibrilares surgen en la porción distal del protoplasma, es decir, en la región de donde las dendritas emanan. A pesar de la complicación de los plexos horizontales tempranamente desarrollados, los cortes paralelos á la retina revelan que las dendritas son mucho más cortas, y poseen menos neurofibrillas que las células adultas. A semejanza de otros elementos (médula, cerebro, etc.), estos filamentos crecen, pues, por alargamiento sucesivo de sus cabos terminales dendríticos, así como por aposición, esto es, mediante agregación progresiva de nuevas neurofibrillas diferenciadas á expensas del espongioplasma incoloreable. Por cierto que la pobreza relativa en ramificaciones secundarias de las dendritas permite demostrar mejor que en el adulto la individualidad neuronal.

Ya hemos dicho más atrás que un rudimento de retículo con hilos

escasos y dendritas cortas y delgadas preséntase ya en la retina del conejo recién nacido ó de dos días.

En resumen, aun cuando nuestras investigaciones histogénicas sean todavía harto imperfectas, permiten desde ahora afirmar:

1.° Que la diferenciación de las neurofibrillas comienza en las neuronas retinianas en la región protoplásmica de donde nacen las dendritas, desarrollándose más tardíamente en los demás territorios protoplásmicos.

2.° Que la aparición de las neurofibrillas precede al comienzo de la actividad funcional. Así, cuando en los pequeños mamíferos se abren los párpados á la luz, el retículo neurofibrilar de los corpúsculos retinianos es ya muy semejante al adulto.

3.° Que la diferenciación de dichos hilos (ó al menos el comienzo de su fase de colorabilidad por la plata) surge en los dos ó tres primeros días que siguen al nacimiento, aumentando progresivamente en número y longitud hasta la época del estreno funcional.

CONSIDERACIONES FISIOLÓGICAS SOBRE LAS NEUROFIBRILLAS

Según es notorio, Apathy (1) y Bethe (2), ilustres descubridores de las neurofibrillas, han estimado tales filamentos intraprotoplásmicos no solamente como un aparato conductor, sino como las únicas vías conductrices de las células nerviosas. El resto del cuerpo celular y expansiones desempeñarían cometidos nutritivos ú otros oficios ajenos á la transmisión de las corrientes.

Semejante opinión, demasiado exclusiva en nuestro sentir, ha sido adoptada *a priori*, sin otro apoyo que un postulado indemostrado, á saber: que de todos los factores constitutivos del protoplasma nervioso, exclusivamente las partes sólidas y filamentosas, que recuerdan groseramente la disposición de los alambres de los aparatos telegráficos, son capaces de engendrar y propagar la onda nerviosa.

Hé aquí una doctrina que pugna con los datos más positivos de la organización y fisiologismo retinianos.

Si hay un órgano nervioso en que se conozca satisfactoriamente la marcha de los impulsos nerviosos ese es la membrana visual. La más ligera reflexión sobre la disposición de las articulaciones retinianas, nos

(1) *Apathy*: Das leitende Element der Nervensystems und seine topographischen Beziehungen zu den Zellen. *Mittheil. a. d. zool. Station zu Neapel.* Bd. 12. H. 4. 1897.

(2) *A. Bethe*: Ueber die Neurofibrillen u. der Ganglienzellen von Wilbelthieren und Beziehungen zu Golginetzen. *Arch. f. mikros. Anat.*, &. Bd. 55. 1900.

— Allgemeine Anatomie und Physiologie d. Nervensystems. 1903.

revela que la ondulación nerviosa se propaga en la retina de atrás adelante, es decir, perpendicularmente á sus estratos, iniciándose el impulso en los conos y bastones, y pasando después á los elementos bipolares y gangliónicos.

Si ahora suponemos, de acuerdo con Bethe, que las neurofibrillas no se anastomosan, representando vías conductrices exclusivas, sería preciso, para que los datos anatómicos respondieran á las exigencias fisiológicas, que el sistema de neurofibrillas radiales predominara enormemente sobre el de las neurofibrillas arciformes ú horizontales. Y justamente ocurre lo contrario. En efecto; las neurofibrillas de orientación radial, representadas principalmente por los axones (prolongación descendente de las bipolares, axon de los elementos gangliónicos, etc.), constituyen una exígua minoría por comparación con las oblícuas ú horizontales (las formadoras de las dendritas), las cuales, no marchando hacia el axon, según afirma Embdem, por fuerza deben estar destinadas á transmitir la ondulación nerviosa en sentido paralelo á la membrana. Semejante desproporción entre ambas especies de conductores corresponde poco más ó menos á la presentada en cada célula considerada individualmente. Según es sabido, el caudal de neurofibrillas existente en el soma y dendritas resulta formidable enfrente del mezquino contingente arribado al origen del axon.

Ya el mismo Embdem, discípulo de Bethe, extrañado de este hecho un tanto perturbador para los dogmas de la escuela de Strasburgo, se ha visto obligado á admitir que las células gangliónicas (*Ganglion nervi optici*) no tendrían solamente por misión transmitir en sentido radial la excitación óptica, sino que además, con ayuda de las neurofibrillas arciformes dendríticas distribuídas por la zona plexiforme interna, llevarían la ondulación en dirección paralela, provocando en el espesor de dicha capa la génesis de procesos fisiológicos actualmente indeterminados.

Mas para ser rigurosamente lógico y fiel á la hipótesis de Bethe, no le basta á Embdem confesar la existencia de algunas corrientes transversales derivadas; menester sería añadir que, á partir del cono, la mayor parte del movimiento nervioso suscitado por el choque de la luz, se propaga necesariamente en sentido transversal en ambas zonas plexiformes, dispersándose y perdiéndose inútilmente. Y para que se juzgue del valor de esta dispersión, bastará recordar que, según las numeraciones emprendidas por nosotros, mientras las neurofibrillas axónicas de las células gangliónicas no pasan de 6 á 10, los filamentos del soma y dendritas se cuentan por centenares. Y esta desproporción se agrava aún en la capa plexiforme externa, cuyas células horizontales (el axon se termina también dentro de la misma zona) contienen ellas solas muchas más neurofibrillas tangenciales que las radiales ó verticales que pudieran

presumirse, juzgando por el espesor de las expansiones, en los corpúsculos bipolares de la misma área ó en el grupo correspondiente de conos y bastones superpuestos.

Las dificultades aumentarían todavía si se pretendiera llevar á la retina la doctrina de Bethe con todas sus derivaciones anatomo-fisiológicas; si, por ejemplo, supusiéramos que las neurofibrillas de las dendritas entraban en continuidad, mediante redes de Golgi continuas extendidas por las zonas plexiformes, con los cabos profundos de los corpúsculos visuales y bipolares. En tal concepto, nos veríamos obligados á admitir que las corrientes retinianas colaterales ó transversales, después de un rodeo más ó menos considerable, podrían desembocar al fin en el nervio óptico, por donde la acuidad usual diferencial de la retina resultaría enormemente disminuída si no del todo anulada.

Hagamos notar que nosotros consideramos la concepción de Bethe por el lado más favorable, puesto que suponemos la realidad de estos tres hechos todavía indemostrados: *a*) existencia de neurofibrillas en conos y bastones; *b*) presencia de algún aparato fibrilar intermediario (redes de Golgi, anastomosis directa de neurofibrillas, etc.) susceptible de enlazar entre sí las tres hileras de elementos retinianos; concesiones exorbitantes y absolutamente contrarias á los resultados de la observación más escrupulosa; *c*) ausencia de conducción transversal de las neurofibrillas (1)

A fin de evitar las graves dificultades suscitadas por la conjetura de Bethe y aprovechar, al mismo tiempo, para el esclarecimiento del dinamismo retiniano, el importante descubrimiento de las neurofibrillas, no queda, en nuestro sentir, otro remedio que retornar á la doctrina neuronal y á la teoría del contacto, que ciertos sabios parecen desdeñar por espíritu de sistema, y en virtud de una aversión verdaderamente incomprensible.

Menester es, asimismo, depurar la concepción neurofibrilar de los errores anatómicos y fisiológicos que la hacen, al presente, inadmisible. Porque si el hecho nuevo ha de ser incorporado á la doctrina neuronal, será

(1) La conductibilidad exclusivamente longitudinal de las neurofibrillas, postulado de la concepción teórica de Apathy y Bethe, está en flagrante contradicción con dos hechos anatómicos recientemente establecidos por nosotros, á saber: 1.° Presencia dentro de las ramas finales de las placas motrices, de redes y asas terminales donde no existe cabo ninguno. 2.° Existencia en las últimas ramas de las fibras musgosas del cerebelo de verdaderas asas y cestas. Estas interesantes disposiciones, cuya importancia teórica es considerable, han sido confirmadas también recientemente por Dogiel en las placas ó discos terminales de los corpúsculos de Meckel de las aves, y por Bielschowky en las fibras musgosas del cerebelo. Claro está que, dadas tales disposiciones, es forzoso admitir que la descarga nerviosa puede hacerse en sentido transversal á las neurofibrillas.

preciso renunciar al erróneo prejuicio de que las neurofibrillas representan unidades aisladas é independientes, incapaces de transmitir más que en el sentido longitudinal, y habrá que admitir, además, en consecuencia con las observaciones recientes de varios autores (Donaggio, Cajal, Van Gehuchten, Marinesco, Lugaro, v. Lenhossék, etc.), que el aparato filamentoso de las células nerviosas está dispuesto en retículo, en el cual desembocan, generando un aparato solidario y continuo, por un lado, las neurofibrillas aferentes ó celulípetas (dendritas), y por otro, las neurofibrillas eferentes ó celulífugas (axon).

Esta disposición reticulada, mediante la cual, según afirma Donaggio, las acciones nerviosas se sintetizan y sufren una elaboración especial, viene á ser algo así como un postulado anatómico, susceptible de explicar la enorme desproporción numérica entre las neurofibrillas de las dendritas y soma y las constitutivas del axon.

Finalmente, supuesta la discontinuidad de las neuronas y la existencia de plexos nerviosos pericelulares y peridendríticos, se nos impone también la admisión (para comprender el paso interneuronal de los impulsos) de una acción inductriz ó á distancia (acaso en virtud de la liberación en las extremidades nerviosas de alguna substancia excitante) á menos que no fuera preferible afirmar, desde luego, la capacidad conductriz de la membrana y citoplasma.

No más á este precio, con las modificaciones impuestas por los resultados de las recientes observaciones, y en armonía con los hechos inconmovibles y legítimamente adquiridos en que se basa la teoría neuronal, estaremos en el caso de atribuir algún papel fisiológico al retículo neurofibrilar.

A pesar de todos estos ensayos de interpretación dinámica de la histología retiniana, queda todavía mucho por esclarecer. Aludimos, sobre todo, al papel desempeñado por las células horizontales, cuya extraordinaria abundancia, las relaciones inter-retinianas que establecen, precisamente en sentido horizontal y lo mismo á pequeñas que á grandes distancias, son hechos que parecen destinados á estorbar la cualidad analítica de la percepción visual.

No pretendemos abordar aquí el difícil problema de la significación de las vías horizontales de la retina, que en el fondo no es más que un caso particular de la cuestión del fisiologismo de las células de axon corto. Limitarémonos únicamente á recordar que, á juzgar por el modo de repartición y posición de tales elementos, es imposible considerarlos, según se ha hecho hasta ahora, cual neuronas ó anillos intercalados en las vías aferentes ó eferentes principales de los centros nerviosos. En el cerebelo, puente de Varolio, bulbo olfativo, cerebro, etc., las células de axon corto

están dispuestas más bien al lado de dichas vías, constituyendo arcos nerviosos accesorios cuyas dendritas entran en contacto con fibras sensoriales ó aferentes, y cuyo axon se relaciona con células de axon largo, es decir, con el arranque de las vías eferentes ó centrífugas. Esta situación especial, que puede generalizarse también á los elementos horizontales de la retina, ¿no parece indicar que las células de axon corto desempeñan en la fisiología nerviosa un papel completamente especial, por completo ajeno á la función asociativa? Y para decirlo de una vez ¿no podrían representar aparatos generadores de energía nerviosa, especie de condensadores colocados al lado de aquellas articulaciones neuronales cuyas corrientes deben alcanzar en momentos dados una gran tensión? Desgraciadamente, esta concepción que hemos desarrollado en otro trabajo (1), con estar muy de acuerdo con los hechos anatómicos, no pasa de ser todavía una conjetura, insusceptible actualmente de comprobación experimental.

INDICACIONES TÉCNICAS

Nuestro proceder de coloración de las neurofibrillas ha sido ya publicado detalladamente en diversos números de esta REVISTA. El lector que desee conocer la técnica por extenso, deberá consultar, sobre todo, nuestro trabajo de conjunto sobre las neurofibrillas (2) y otras adiciones posteriores.

Aquí nuestro objeto es indicar, en resumen, las dos fórmulas que empleamos especialmente en la retina, donde la reacción se da con mucha constancia y vigor.

Primera fórmula. — 1.° Trozos de retina sola ó con la esclerótica y coroides se abandonan, durante tres ó cuatro días, en estufa (de 30 á 35°) y en una solución de nitrato de plata al 1'50 por 100. Pueden usarse soluciones menos (0'75) ó más fuertes (3 por 100) según los casos.

(1) *S. R. Cajal*: Textura del sistema nervioso de los vertebrados, etc., tomo II, part. II, 1904.

— Significación probable de las células de cilindro-eje corto. — *Trab. del Lab. de Inv. biol.*, tomo I, 1091-1902.

(2) *S. R. Cajal*: Un sencillo método de coloración del retículo de las células nerviosas y sus efectos en diversos órganos nerviosos. — *Trab. del Lab. de Inv. biol.*, fasc. IV, 1903.

— Algunos métodos de coloración de los cilindros-ejes, neurofibrillas y nidos nerviosos. — *Trab. del Lab. de Inv. biol.*, fasc. I, Marzo 1904.

— Asociación del método del nitrato de plata con el embrionario para el estudio de los focos motores y sensitivos. — *Trab. del Lab. de Inv. biol.*, fasc. 2 y 3, tomo III, 1904.

2.° Tras un lavado de algunos segundos en el agua destilada, se reduce el nitrato de plata de la pieza, durante veinticuatro horas, en este baño:

Agua destilada	90 cent. cúb.
Acido pirogálico ó hidroquinona	1 gramo.
Formol.....	5 á 15 cent. cúb.

3.° Sacadas las piezas de este líquido y lavadas por algunos minutos en agua, se endurecen en alcohol, se engloban en celoidina y se reducen á cortes. Aclaramiento de esencia de orégano, y montaje en damar como de ordinario.

Los cortes presentan buena transparencia y un color amarillo claro, á veces algo aleonado, en cuyo fondo destacan, impregnados en negro, café ó chocolate, las neuronas y sus expansiones, que pueden seguirse con grande facilidad. La impregnación recae á la vez, de ordinario, sobre todos los elementos en posesión de un retículo neurofibrilar diferenciado. Por lo cual, las capas plexiforme interna y externa muestran una cantidad enorme de dendritas que hacen, á veces, muy difícil el análisis. Sin embargo, á semejanza del método de Golgi (pero con mucha menos frecuencia que en éste), se encuentran parajes donde sólo se han impregnado algunos elementos.

La proporción argéntica del baño es importante. Soluciones fuertes fijan bien (3 por 100), pero no dan, por lo común, un contraste suficiente entre las neurofibrillas y la substancia interfilar ó citoplasma. Las soluciones 0'75 por 100 producen á menudo coloraciones intensas y selectivas del retículo, pero tienen el inconveniente de retraer demasiado el cuerpo celular, generando á veces un espacio vacío debajo de la membrana. Por esta razón las proporciones 1'20 á 1'50 y 1'75 son de preferir, sobre todo para las pequeñas retinas de conejo y cavia. En cambio, para las grandes retinas de buey y carnero será conveniente aumentar la proporción y aun llegar al 2'5 y al 3 por 100.

Fórmula segunda ó con fijación al alcohol amoniacal. — La impregnación tras simple fijación con alcohol absoluto por dieciséis á veinticuatro horas, proporciona también buen resultado en el conejo y animales de pequeña retina; mas en general, y muy singularmente para teñir satisfactoriamente las neuronas voluminosas de las retinas recias (perro, carnero, vaca) conviene fijar con el alcohol amoniacal.

He aquí la marcha de las operaciones:

1.° Las retinas frescas se sumergen de doce á veinticuatro horas en:

Alcohol absoluto.....	50
Amoníaco.....	5 á 7 gotas.

2.° Previo lavado por algunos segundos en alcohol puro para quitar la mayor parte del amoníaco, se sumergen en el nitrato de plata al 1'50 por 100. Permanencia en estufa, cuatro ó cinco días.

3.° Reducción del nitrato, deshidratación de las piezas, englobamiento, etc., como en la fórmula anterior.

Algunas veces añadimos al líquido fijador alcohólico amoniacal 5 ó 6 por 100 de glicerina. Esta adición impide la retracción de las células y da á los fondos alguna más transparencia. No es necesaria, sin embargo, en la mayoría de los casos, y aun puede en ocasiones ser dañosa á la impregnabilidad de las células pequeñas.

La fórmula con fijador alcalino colorea de preferencia las gruesas células gangliónicas y los corpúsculos horizontales, y frecuentemente en matiz rojo chocolate. En lo referente á células pequeñas y medianas, esta fórmula resulta menos eficaz que la primera.

Cuando la reacción es fina y selectiva, pero algo pálida, puede recurrirse al virado, como ya propuso Simarro al tratar de su método de coloración con las sales de plata y hemos aconsejado nosotros y Lenhossék (1) para el proceder que nos ocupa, y últimamente Bielschowski (2) para el suyo. El virado acentúa la coloración de las neurofibrillas, haciéndolas contrastar algo más sobre el fondo, y cuando la operación se conduce bien no altera nada la homogeneidad del depósito metálico. Habiendo hablado en otros trabajos de la fórmula de virar, no la detallaremos aquí. Sólo añadiremos á lo expuesto que, además de los procedimientos de virado conocidos, la intensificación de los depósitos argénticos de nuestros preparados, puede conseguirse de otras dos maneras.

Intensificación por precipitación del oro por el ácido pirogálico. — En las retinas fijadas por el alcohol solo ó el alcohol amoniacal, y metalizadas, según dejamos expuesto, en el baño de ácido pirogálico, cabe lograr una gran intensidad de coloración, sometiéndolas en bloque á la acción de un baño de oro. He aquí *el modus operandi:*

1.° Las piezas, reducidas ya por el ácido pirogálico formólico, se dejan de seis á veinticuatro horas (según su dimensión) en alcohol de 40° que se renovará dos veces. Este baño de alcohol tiene por objeto extraer una gran parte del ácido pirogálico en exceso, que, de permanecer en las piezas, produciría con el oro un precipitado demasiado abundante.

2.° Dichos trozos permanecen de uno á dos días en una solución de cloruro de oro al 1 por 500.

(1) *v. Lenhossék*: Ramon y Cajal's neue Fibrillenmethode. *Neurol. Centralbl.*, n.° 13, 1904.

(2) *Bielschowski*: Die Silberimpragnation der Neurofibrillen. *Neurol. Centralbl.*, n.° 21, 1903.

3.° Lavado en agua, y luego alcohol, celoidina, etc. Los cortes, que deben ser muy finos, se montan como de ordinario.

Las células exhiben un hermoso color violado intensísimo, y las dendritas síguense admirablemente, gracias á la gran energía de la impregnación. Los núcleos y el fondo presentan bello matiz rosa.

Esta reacción, de que nos ocuparemos detalladamente en otro trabajo, no es un virado, sino una reducción anaerobia selectiva del oro, producida por el resto de ácido pirogálico conservado en las neuronas. Si el reductor fuera totalmente eliminado, obtendríamos un simple virado en bloque, con tono gris azulenco, pero sin refuerzo notable.

Tampoco en los cortes, es decir, reduciendo el oro en presencia del aire, se consigue más que un virado sencillo, en el cual el fondo se tiñe tanto más intensamente en gris azulado cuanto mayor cantidad de ácido pirogálico se conserve en la pieza (1). Es, para nosotros indudable, que las reacciones químicas lentas, al abrigo del aire, operadas en el espesor de las piezas van acompañadas de fenómenos físicos (de atracción y repulsión), que no se dan ó se dan muy difícilmente en el teñido de los cortes. Semejantes reacciones, sobre ser más selectivas, producen, por lo común, precipitados de grandísima tenuidad.

Refuerzo por la plata.—Son bien sabidas las fórmulas de refuerzo que los fotógrafos antiguos (época del colodion) usaban para exagerar los contrastes de la imagen fotográfica. En ellas entraba frecuentemente una mezcla de nitrato de plata y ácido pirogálico.

Nosotros, á raíz de nuesta primera publicación sobre el argumento, ensayamos algunas de ellas, así como el método doble (simple repetición de las operaciones de nitratación y reducción) que tan buenos resultados nos había dado en la reacción cromática de Golgi. Pero no habiendo conseguido ampliar sensiblemente las revelaciones repitiendo la primera fórmula de impregnación, no expusimos nada sobre el particular. Últimamente Besta (2), que ha aplicado con éxito nuestro proceder (primera fórmula) á la neurogenesis en el embrión de pollo, afirma haber ensayado, sin resultado, el proceder doble, ó sea la reinmersión en nitrato de las piezas ya reducidas, y su nueva reducción en el pirogálico. Recientemente, hemos repetido sistemáticamente estas experiencias en la retina y otros centros nerviosos, y nos hemos persuadido de que con la antigua fórmula no aparecen detalles nuevos y, en cambio, el fondo amarillento adquiere excesiva impregnación, sin que la energía del colorido tomado

(1) Por esta razón, cuando se pretende virar cortes impregnados con nuestro proceder, conviene extraer antes el ácido pirogálico merced á un lavado en agua alcoholizada.

(2) *C. Besta*: *Rivista sperimentale di Frenatria*, vol. XXX, fasc. II-III, 1904.

EXPLICACIÓN DE LA LÁMINA

Casi todas las figuras se han dibujado con el objetivo 1'30 apocromático Zeiss, oculares compensadores 8 y 12. El aumento ha variado algo en las diversas figuras.

Fig. 1. — Corte de la retina del conejo adulto. Impregnación con el nitrato de plata, fórmula primera. La retina ha sido cortada algo oblícuamente, á fin de que la capa plexiforme externa resulte más extensa y exhiba mejor su constitución.

a, células gangliónicas de mediana talla; *b*, *d*, otros elementes más pequeños de la misma clase; *e*, *f*, *g*, células amacrinas; *h*, plexo interno de la zona plexiforme; *i*, plexo externo de la misma; *k*, artículo interno de los bastoncitos; *l*, grá nulo del *Fadenaparat*.

Fig. 2. — Corte de la retina del conejo de seis días. Igual método. Aumento mayor que el de la fig. 1.

a, *b*, *c*, células gangliónicas; *e*, *d*, *f*, células amacrinas; *h*, células horizontales.

Fig. 3. — Célula ganglionar voluminosa del conejo. Aumento considerable. Corte horizontal.

a, axon; *b*, *c*, dendritas.

Fig. 4. — Corpúsculo gangliónico más robusto que el de la precedente figura.

a, axon; *b*, plexo de neurofibrillas superficiales; *c*, plexo profundo ó perinuclear; *e*, dendrita; *b*, vacuolas periféricas producidas por el levantamiento de la membrana.

Fig. 5, 6 y 7. — Células amacrinas de la retina del gato de algunos días. Cortes horizontales.

a, red neurofibrilar inferior; *b*, fascículos de neurofibrillas que van de una expansión á otra; *c*, filamentos primarios; *d*, filamentos secundarios.

Fig. 8. — Célula gangliónica del conejo. Retracción del retículo.

a, retículo supranuclear; *b*, axon; *c*, dendritas; *d*, espacio vacío por debajo de la membrana.

Fig. 9. — Retina del conejo adulto. Segunda fórmula. Corte horizontal. Obsérvanse algunas células horizontales cuyo retículo aparece coloreado en rojo moreno.

a, axon; *b*, núcleo; *c*, ramas finas de color más obscuro, constitutivas del plexo externo.

Fig. 10. — Célula horizontal del gato de ocho días. Objetivo 1'40, ocular 12.

a, axon; *b*, región cerca del núcleo, donde se aprecia una red.

Fig. 11.—Corte paralelo de la capa plexiforme interna del conejo. Segunda fórmula.

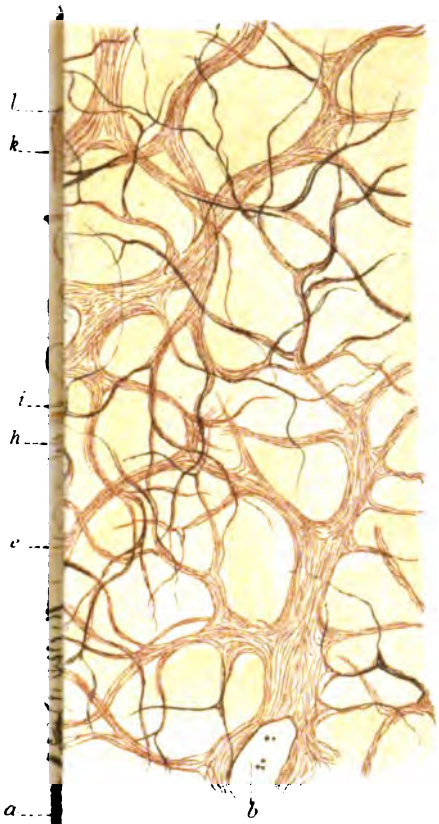
a, lagunas dentro del plexo de dendritas, correspondientes á las fibras de Müller; *b*, dendritas fasciculadas de las gangliónicas gigantes; *c*, finas ramas de corpúsculos gangliónicos pequeños.

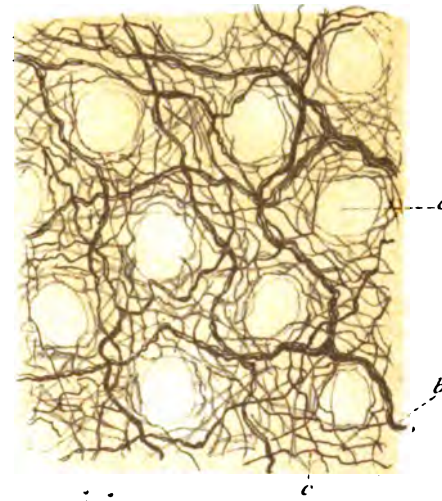
Fig. 12. — Célula gangliónica gigante del cordero. Corte transversal de la retina. Impregnación por la fórmula segunda.

a, axon; *b*, dendritas; *e*, nucleolo; *f*, cuerpos accesorios.

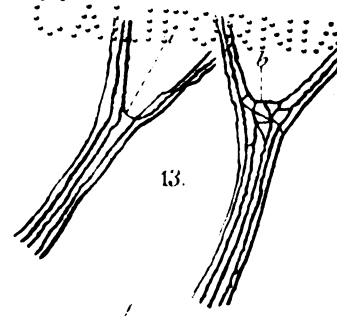
Fig. 13. — Figuras semiesquemáticas mostrando á gran aumento detalles de las divisiones dendríticas de los corpúsculos ganglionares gigantes.

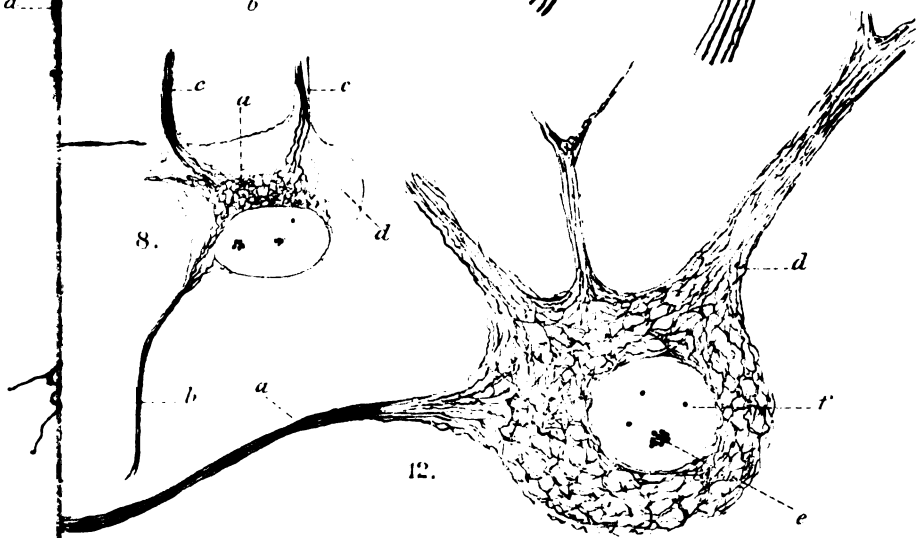
a, bifurcación de una neurofibrilla; *b*, red complicada.





UNIV. OF CALIFORNIA





por las neurofibrillas baste á compensar la pérdida de transparencia del conjunto.

Sin embargo, si en lugar de la fórmula primera, que proporciona fondos harto teñidos por lo común, se usa la segunda (fijación alcohólica sola ó alcohólico-amoniacal) que no colorea nada el cemento de los centros nerviosos y apenas las partes desprovistas de neurofibrillas, el resultado es ya mucho mejor, pudiendo prestar servicios en los casos en que la impregnación fina y completa aparece excesivamente pálida. Tampoco en tales preparados se encontrarán detalles nuevos, pero sí refuerzos de lo anteriormente teñido, con lo que neurofibrillas delicadas y trabajosamente perceptibles (filamentos secundarios, por ejemplo), se harán más accesibles á la observación.

Para lograr semejante resultado, operamos de dos modos:

Cuando se requiere no más un refuerzo regular, nos limitamos á sumergir las piezas recién sacadas (previo lavado en agua destilada por algunos minutos) del ácido pirogálico, en una solución de nitrato de plata al 1'50 por 100. El tiempo de permanencia en el baño (en frío) es de veinticuatro horas. Se lavan después durante algunas horas en agua destilada, y se procede á indurar, celoidinar y cortar. Por medida de precaución conviene pasar las secciones, antes de proceder á montarlas, por una solución al 5 por 100 de hiposulfito de sosa, ó un baño viro-fijador fotográfico.

Mas si el refuerzo debe ser grande, las piezas sufrirán sucesivamente y en frío, las dos operaciones de nitratación y reducción, cada una de las cuales durante veinticuatro horas. De esta suerte, la intensidad crecerá notablemente sin que el fondo se obscurezca demasiado.

LAS LESIONES DEL RETÍCULO DE LAS CÉLULAS NERVIOSAS EN LA RABIA

POR

S. R. CAJAL Y D. DALMACIO GARCÍA

(Trabajo del Instituto de Seroterapia y Bacteriología de Alfonso XIII)

Weller (1), Hallier (2), Polaillon y Nepveu (3), fueron los inauguradores del estudio histológico de las lesiones rábicas, pero este estudio sólo adquirió verdadera importancia desde el año 1875 en adelante. En efecto, el indicado año, el sabio Balzer (4), analizando la substancia cerebral de un hombre muerto de hidrofobia, descubrió alteraciones de origen vascular, consistentes en el acúmulo de leucocitos alrededor de los linfáticos y de los pequeños vasos sanguíneos.

Benedikt (5) halla las mismas lesiones en el cerebro y en la médula de un caballo muerto de rabia. Kolesnikoff (6) confirma los antedichos trastornos y añade que se encuentran muy evidentes en los cuerpos estriados.

Coats (7), Gowers (8), Nocard (9), Wassilieff (10), Huguenin (11), Meynert (12), Mendoza (13), Gamaleia (14) y otros investigadores, estudian también las lesiones vasculares, averiguando que radican en las paredes de los capilares, las cuales se hallan infiltradas de leucocitos; el

(1) *Weller*: Tesis de Zurich y *Archiv. für Psychiatrie und Nervenk*
(2) *Hallier: Zeitsch. Paras.*, vol. I, p. 1872.
(3) *Polaillon et Nepveu:* Un cas de rage. *Compt. rend. Soc. de biol.*, 1872, p. 132.
(4) *Balzer*: Lesions cérébrales et bulbaires dans la rage. *Soc. Anatomique*, 1874.
(5) *Benedikt: Wiener med. Presse*, XV, p. 617 (1874).
(6) *Kolesnikoff: Centralbl. f. d. med. Wissensch.*, 1875, p. 853.
(7) *Coats*: *British med. Journ.*, 1877, p. 866
(8) *Gowers*: *Trans. Path. Sok.* London. 1877, p. 10.
(9) *Nocard*: *Recueil de med. Véteri. Bulletin*, 1878.
(10) *Wassilieff: Centralbl. f. d. med.* W., 1876.
(11) *Huguenin:* Ueber Lissa, 1880.
(12) *Meynert*: Klinik der Nervenkrankh. Stuttg., 1875.
(13) *Mendoza*: *Enciclopedia internacional de Cirugía*, citado por Ribera en su monografía sobre la rabia, 1888.
(14) *Gamaleia*: *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1887, p. 165.

endotelio, los elementos musculares y las células conjuntivas de la túnica interna, encontraríanse en estado de proliferación.

Las mencionadas lesiones se aprecian bastante bien en la substancia gris del cerebro y de la médula, notándose, además, en torno de los vasos y de las neuronas, multitud de células redondas.

Schaffer (1) descubre una abundante emigración de leucocitos en las astas anteriores de la médula, formando verdaderos acúmulos alrededor de los vasos. Confirma, además, la existencia de focos hemorrágicos que producen la necrosis del perénquima de las astas medulares y la formación de islotes de una substancia homogénea constituída por glóbulos blancos, rojos y mielínicos.

Pero la verdadera importancia del trabajo de este sabio estriba en el descubrimiento de lesiones en las células motrices de la substancia gris de la médula. Consisten dichos trastornos en alteraciones que revisten unas veces la forma de *atrofia pigmentaria* con formación de vacuolas, otras las de *degeneración granulosa del núcleo* y, en ocasiones, la de *degeneración hialina* ó *fibrinosa*.

Desde el punto de vista del diagnóstico de la rabia, la *degeneración granulosa* del núcleo tiene una gran importancia, dado que no se aprecia nunca en las células nerviosas normales.

Babés, por su parte, en una serie de trabajos, á cual más importantes (2), señala y describe lesiones en la substancia gris de la médula y en los núcleos motores del bulbo. Estas alteraciones consisten en una modificación particular del protoplasma celular, caracterizada por la desaparición de los husos cromáticos, variación progresiva, hasta la desaparición, del núcleo, dilatación de los espacios pericelulares é invasión de éstos por elementos embrionarios. Algunas neuronas hállanse rodeadas de una ancha zona de elementos embrionarios, formando *nódulos* que el autor califica de *rábicos* y estima como lesión constante y patognomónica de la enfermedad. Esta es la importante alteración que autores modernos llaman *lesión de Babés*.

(1) *Schaffer* : *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1889, p. 644.

(2) *Babés* : Sur certains charactéres des lesions histologiques de la rage. *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1892, p. 209.

— Ueber den Einfluss der verschiedenen Infectionen auf die Nervenzellen des Rückenmarks. *Berliner klin. Wochenschr.*, 1898.

— Sur lesions précoces des centres nerveux de la rage. *C. R. Acad. de Sc.*, 1898, p. 776.

— Les nodules rabiques et le diagnostic rapide de la rage. *Press. med.*. 1900, p. 169.

— Le diagnostic de la rage par l'examen microscopique du bulbe du chien mordeur. *Ann. de med. Véter.*, 1900.

Gianturco (1) confirma las observaciones de Babés, acentuando su importancia. Golgi (2) descubre lesiones en las células neuróglicas, en el epitelio del epéndimo y en el endotelio vascular, lesiones traducidas por la hinchazón de los núcleos celulares, indeterminación de los límites del protoplasma y presentación en el estroma de pelotones estrellados con estrías ecuatoriales. En cuanto á las neuronas, ofrecen muchas vacuolas diseminadas en el cuerpo y en las dendritas. El protoplasma se torna granuloso y el núcleo excéntrico. Semejantes lesiones hállanse diseminadas á los diversos focos del cerebro y médula. También los ganglios cerebro-espinales son asiento de trastornos análogos.

Germano y Capobianco (3) confirman en el perro las observaciones de Golgi.

En resumen, casi todos los autores antes citados atribuyen la rabia á una flogosis que interesa la totalidad del sistema nervioso y especialmente el encéfalo, médula espinal y ganglios raquídeos. Esta flogosis se acompaña de:

1.° Lesiones vasculares, exudados perivasculares é infiltración de territorios vecinos y espacios pericelulares por elementos linfoides y de nueva formación (Balzer, Weller, Benedikt, Kolesnikoff, Nocard, Wassilieff, Meyner Huguenin, Gombault, Klebs, Gibier, Mendoza, etc.).

2.° Modificaciones celulares de orden diverso, interesando el núcleo y el protoplasma neuronal (Hammond, Weller, Huguenin, Whitoker, Gombault, Schaff, Golgi, Metchnikoff, Gower, Babés, Germano y Capobianco.

Desde el punto de vista de sus aplicaciones diagnósticas, los citados descubrimientos ofrecen interés, singularmente las lesiones descritas por Balzer, Babés y Schaffer; mas lo delicado de la técnica necesaria para poner en evidencia tales transformaciones, ha sido obstáculo á utilizarlas corrientemente en el diagnóstico anatomo-patológico de la rabia.

Mucho más provechosos y fáciles á este respecto se muestran los datos histo-patológicos aportados por Nelis y van Gehuchten (4) en 1900. Según

(1) *Gianturco*: Ricerche istologiche sulla rabbia. *Psichiatria*, 1887, p. 299.

(2) *Golgi*: *Archives italiennes de Biologie*, 1887. — Ueber die pathologische. Histologie der Rabies experimentalis. *Berliner klin. Wochenschr.*, 1895.

(3) *Germano y Capobianco*: Contribution à l'histologie de la rage. *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1895.

(4) Los trabajos más notables de van Gehuchten y Nelis son los siguientes:

Les lésions histologiques de la rage chez les animaux et chez l'homme. *Bull. Acad. roy. de Med. de Belg.*, 1900, p. 31.

— Etude sur l'anatomie et la phisiologie pathologiques de la rage. *Archiv. de Biologie* (Nelis), 1900, p. 601.

La rage. *Ann. de l'Inst. chir. de Bruxelles* (van Gehuchten), 1900.

— Diagnostic histologique de la rage. *Ann. de Med. Véter.*, 1900.

— A propos du diagnostic histologique de la rage des rues. *Semaine méd.*, 1900. *Le Nevraxe*, 1900.

estos sabios, la flegmasía rábica afecta muy intensamente los ganglios raquídeos, y singularmente el ganglio plexiforme del vago, y la principal lesión consiste en una abundante proliferación de las células endoteliales de la cápsula del corpúsculo gangliónico, lo cual da lugar á la formación de grandes acúmulos pericelulares y á la consiguiente degeneración y atrofia del elemento nervioso. Variable es la intensidad y extensión de este trastorno, que llega á veces á interesar la casi totalidad de las células gangliónicas. Cuando esto acontece, los límites que antes separaban los nódulos rábicos, es decir, los acúmulos periceculares é intracapsulares, han desaparecido, y todo el corte del ganglio aparece constituído por pequeñas células muy próximas entre sí y entre las cuales se aprecian aún, en distintos puntos, vestigios de células nerviosas en vías de atrofia. Las indicadas alteraciones de los ganglios no poseen la misma intensidad en todos ellos. Los plexiformes y los de Gaserio las presentan más acentuadas que los espinales, y en el perro se marcan mucho más intensamente que en el conejo.

Las lesiones de van Gehuchten y Nelis han sido confirmadas por Hebrant (1), Vallés (2), Cuillé y Vallée (3), Gratia (4), Orocards (5), Ravenel (6), Stazzi (7), Sano (8), Spiller (9), Franca (10), Bailey (11), Osw Gœbel (12), Rabiaux (13).

Por nuestra parte, las citadas lesiones descubiertas por el anatómico de Lovaina, hémoslas comprobado en 96 casos de rabia canina, habiéndonos sido de mucho provecho su hallazgo para el diagnóstico de la enfer-

(1) *Hebrant*: Sur las lésions de la rage chez le chien et sur le diagnostic post-mortem de cette afection. *Ann. de méd. Véter.*, 1900, p. 76, 302 y 569.

(2) *Vallée*: Sur l'anatomie pathologique et le diagnostic rapide de la rage. *Revue Véter.*, 1900, p 364.

(3) *Cuillé y Vallée*: *Bull. de l'Acad. de Méd.*, 1900 (17 de Abril).

(4) *Gratia*: *Ann. de Méd. Véter.*, 1900, p. 345.

(5) *Orocards*: Sur le diagnostic de la rage. *Revue Véter.*, 1900, p. 768.

(6) *Ravenel*: Diagnóstico rápido de la rabia. *University Medical Magazine*, 1903.

(7) *Stazzi*: La diagnosis istologica della rabbia. *Il Moderno Zooiatro*, 1901, p. 262.

(8) *Sano*: Lésions anatomo pathologiques de la rage des rues. *Ann. de la Soc. med.-chir. de Amvers.*, 1900.

(9) *Spiller*: Remarks. on the importance of the so-called specific lésions of rabies. *University Medical Magazine*, 1901, p. 776.

(10) *Franca*: *Le Nevraxe*, 1902.

(11) *Bailey*: Studes on the morphology of ganglion cells in the rabbit. *The Journal of experimertal medecine*. New York, 1901, p. 549.

(12) *Osw Goebel*: Contribución al estudio de las lesiones de los ganglios periféricos en las enfermedades infecciosas. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1902.

(13) *Rabiaux*: Sur le diagnostic histologique de la rage du chien. *Journal de med. Véter.*, 1902,

medad después de muerto el animal sospechoso. En los casos citados (96 en 146 análisis), la inoculación reveladora confirmó el diagnóstico histológico. No obstante, en dos perros evidentemente hidrófobos, aprecióse sólo ligera infiltración pericelular con elementos de nueva formación, sin lesión bien ostensible del protoplasma neuronal. Sólo en un ejemplo faltó la lesión, á pesar de que la inoculación de prueba resultó positiva Hagamos notar que casi todas nuestras observaciones han recaído en los ganglios plexiformes del pneumogástrico.

Las lesiones halladas por Franca en las células cebadas de Ehrlich, las señaladas por Elsenberg (1) y el aumento en la proporción de glóbulos blancos polinucleares (polinucleosis) señalado por Courmont y Lesieur (2), sólo tienen un valor secundario, como elementos del diagnóstico de la rabia.

Segun Carlos Franca, las lesiones por él apreciadas en las células de Ehrlich de la trama conectiva de los ganglios raquídeos, tienen una significación diagnóstica tan grande como las descubiertas por Nelis y van Gehuchten en los ganglios cerebro-espinales. Asegura el autor que las alteraciones de las mencionadas células son exclusivas de la rabia, ya que faltarían constantemente en individuos muertos de difteria, de tétanos, de tuberculosis y de otras enfermedades. Además, las indicadas células resistirían á la putrefacción mucho más que los elementos nerviosos, por cuyo motivo permitirían al práctico diagnosticar aun en aquellos casos en que, descompuesta la substancia ganglionar, resulta imposible percibir las lesiones de las neuronas y de sus cápsulas. Pero el signo de Franca debe ser algo inconstante, pues nosotros, en varios casos de rabia canina y del conejo, hemos hallado las células de Ehrlich enteras, sin disgregación granular y con el núcleo normal.

Por lo que toca á las alteraciones señaladas por Elsenberg en las glándulas salivares (submaxilar y sublingual) de los perros rabiosos, deben ser tenidas en cuenta. Nosotros las hemos comprobado en 6 casos de rabia confirmada. La técnica es muy sencilla, puesto que se reduce á endurecer en alcohol absoluto trocitos de glándula, pasarlos después de veinticuatro horas á una mezcla á partes iguales de alcohol absoluto y éter, tiñendo después los cortes, previo englobamiento en celoidina, con la tionina. Si la glándula, objeto del análisis, procede de un perro muerto de rabia ó sacrificado en un período avanzado de la enfermedad, apré-

(1) *Elsenberg* : Die anatomischen Veränderungen der Speicheldrüsen bei Wuthkrankheit der Hunde und Menschen. *Centralbl. für die medic. Wochenschr.*, 1881, p. 225.

(2) *Courmont et Lesieur* : La polynucleose de la rage. *Journal de physiologie et de pathologie generale*, 1901, p. 599.

ciase en seguida infiltración leucocitaria general, infiltración que se convierte en verdaderos acúmulos en distintas zonas, especialmente en las proximidades de los capilares y de los conductos excretores. Algunos globulillos glandulares vense invadidos por los leucocitos, teniendo en este caso algún parecido con los tubérculos rábicos de Babés y de van Gehuchten. Además, hemos notado que la intensidad de estas alteraciones guarda relación con las apreciadas en los ganglios. A pesar de todo, no creemos preferible, como medio de diagnóstico de la rabia, el análisis de las glándulas al de los ganglios plexiformes. Aparte que la lesión de Elsenberg puede presentarse en otras enfermedades de los perros (la hemos visto también en un caso de enteritis aguda), no suelen mostrarse nunca con la claridad convincente de la de van Gehuchten.

Las investigaciones de Courmont y Lesieur, relativas á la *leucocitosis total* y *á la polinucleosis*, merecen ser tenidas en cuenta cuando de establecer el diagnóstico de la rabia se trate; pues aun cuando del trabajo de estos autores se desprende la inferioridad de su método diagnóstico comparado con el de van Gehuchten y Nelis, hay, sin embargo, casos en que la citada alteración globular, por lo precoz, pudiera dispensarnos de recurrir al análisis histológico de los ganglios.

En efecto, según los mencionados autores, en la rabia confirmada, esto es, después de la aparición de los síntomas nerviosos, existe siempre notable polinucleosis. Tan constante y expresivo vendría á ser dicho trastorno, que su ausencia excluiría toda idea de rabia. El hecho podría comprobarse, tanto analizando la sangre como el jugo pulmonar recogido dentro de las seis horas siguientes á la muerte, á condición de que el cadáver haya sido conservado en sitio fresco.

Nuestras observaciones nos permiten afirmar la realidad del signo de Courmont, mas no podemos, empero, concederle significación diagnóstica decisiva. Cierto que la falta de polinucleosis representa dato de gran valor, pero, en cambio, su presencia, en tanto que síntoma aislado, no es suficiente á determinar la naturaleza lísica de la infección, toda vez que existen afecciones acompañadas del mismo fenómeno.

Otro descubrimiento anatomo-patológico interesante ha sido hecho recientemente por Negri (1). Este autor ha señalado en el interior de las células nerviosas del hombre y animales rábicos, la existencia de cuerpos protoplásmicos especiales, esféricos, hialinos, que se colorean intensamente en rojo por el método de Mann. Residen en las células piramidales del asta de Ammon, corpúsculos de Purkinje, pirámides gigantes del cerebro, etc. Su diámetro, muy variable, oscila entre 4 y 10 μ, llegando á

(1) *Negri*: *Bull. della Soc. med. chir. di Pavia.* Marzo, 1903. *Riforma medica*, 1903, p. 636 y 637.

veces á 25 μ. Semejantes corpúsculos, que su descubridor estima de naturaleza parasitaria y que han sido confirmados por varios autores, tales como Guarnieri (1), Daddi (2), Bertarelli y Volpino (3), Beck (4), etc., representan verosímilmente productos degenerativos del protoplasma nervioso.

En pro de este dictamen habla el hecho de su inconstancia (á nosotros nos han fallado varias veces en el conejo inoculado con el virus fijo), la variabilidad de su tamaño, su incultivabilidad, su semejanza con las esferas coloideas del cáncer y los corpúsculos fuchinófilos de Russel y su falta de estructura ó de organización. Sin contar con que, como ha probado Remlinger (5), no hay correlación entre la abundancia de dichos corpúsculos y la severidad del ataque lísico, faltando á menudo en el bulbo, médula espinal y ganglios, territorios donde residen las más importantes lesiones de la rabia. En fin, añadamos aún que las experiencias de filtración del virus rábico efectuadas por Remlinger (6), di Vestea (7), Schuder (8), Bertarelli y Volpino (9), Celli y Blasi (10), etc., parecen probar que el germen de la rabia pertenece á la categoría de los ultramicroscópicos, puesto que atraviesa las bujías Berkefield V y hasta las Berkefeld N y W, de finísimos poros.

En fin, una nota publicada hace algunos meses por nosotros (11), señala la existencia de otra nueva lesión de las células nerviosas en los animales rábicos. Aplicando al estudio de los centros nerviosos de estos animales el reciente método del nitrato de plata reducido, hallamos una singular y notabilísima hipertrofia de las neurofibrillas, con formación de extensos espacios claros interfilares, y al parecer desprovistos de armazón. Esta alteración, comparable á la presentada en los animales entorpecidos por el frío (reptiles), ó por algunas células inmaturas de los animales recién nacidos, es absolutamente constante en los animales rábicos, y se encuentra en todos los centros nerviosos.

(1) *Guarnieri*: *Clin. med. Firenze.* Mayo, 1903.

(2) *Daddi*: *Riv. critica di clinica medica.* Mayo, 1903.

(3) *Bertarelli e Volpino*: *Riv. d'Igiene e sanita publ.*, 1903. *Centralbl. f. Bakteriologie.* Orig. Nov., 1903.

(4) *Beck*: *Forts. d. Veter.*, 1 année.

(5) *Remlinger*: Les travaux recents sur la rage. *Bulletin de l'Institut. Pasteur.* n.° 20, Octobre, 1904.

(6) *Remlinger*: *Societé de Biol. de Paris.* Seance 13 Juin, 1903.

(7) *Di Vestea*: *Acad. med. di Pisa.* 28 Junio, 1903.

(8) *Schüder*: *Deutsch. med. Wochen.* 28 Septiembre, 1903.

(9) *Bertarelli e Volpino*: *Riv. d'Igiene e sanita publica.* 16 Nov., 1903.

(10) *Celli é Blasi*: *Riv. critica di clinica medica*, n.° 42, 1903.

(11) *S. Ramón y Cajal*: Variaciones normales y patológicas del retículo neurofibrilar. *Trab. del Lab. de Invest. biol.* Tomo III, fascículo I, Marzo 1904.

Por su parte Marinesco (1), habiendo aplicado el mismo procedimiento de teñido, ha comprobado la existencia de la referida hipertrofia neurofibrillar en el conejo y perro rábicos, concediéndole gran importancia para el diagnóstico histológico de la rabia, puesto que no ha logrado sorprender dicha alteración del retículo en ninguna infección experimental, ni en los diversos estados patológicos del eje cerebro-espinal del hombre. Hace también resaltar el valor diagnóstico que posee, en su sentir, la disminución y dispersión en la rabia de las esférulas del nucleolo, así como el aumento concomitante de los cuerpos ó granos accesorios del nucleoplasma.

El objeto del trabajo actual, ya anunciado en nuestra nota preventiva, es exponer detalladamente las singulares metamorfosis experimentadas, durante la infección rábica, por el retículo de los diversos corpúsculos nerviosos, llamando la atención de los sabios, tanto sobre la constancia y valor diagnóstico de estos cambios, como sobre su importante significación para el estudio de la biología de las neurofibrillas. Según se verá en el curso de este trabajo, el armazón del protoplasma neuronal, lejos de ser un aparato conductor inerte, es asiento de interesantes fenómenos vitales, de procesos de reacción, crecimiento y regeneración muy dignos de atento análisis y preferente consideración.

Las presentes observaciones han recaído en el conejo y el perro infectados, tanto por el virus fijo como por el virus de la calle. Sin embargo, la facilidad y comodidad de la experimentación en el conejo (animal que podemos sacrificar en las diversas fases de la infección lísica), ha sido causa de que á este roedor se refieran la mayor parte de nuestras descripciones y figuras. También en el cavia, animal comunmente utilizado para las inoculaciones reveladoras, se han confirmado las referidas lesiones.

A fin de estudiar evolutivamente las lesiones, nuestros preparados corresponden en su mayoría á estos tres períodos: 1.°, *fase de paresia ó de torpeza motriz*, correspondiente de ordinario á los días séptimo y comienzo del octavo de la inoculación intracraneal del virus fijo en el conejo; 2.°, *fase de hemiplegia*, contemporánea del octavo día; y 3.°, *fase de parálisis total*, que precede inmediatamente á la muerte, acaecida, según es sabido, al final del noveno día, rara vez al comienzo del décimo. Poseemos también preparaciones del período de incubación, es decir, desde el cuarto al sexto; pero sólo desde el sexto al séptimo día pueden sorprenderse alteraciones perceptibles en las neurofibrillas. Por lo

(1) *Marinesco*: Nouvelles recherches sur les neurofibrilles. *Revue Neurologique*, n° 15, 15 Août 1904.

demás, como es sabido, el tiempo en que se presentan los referidos síntomas, así como el orden con que suceden, ofrecen no pocas variantes.

Para facilitar el estudio de las alteraciones, expondrémoslas por órganos nerviosos, á partir de los ganglios sensitivos.

GANGLIOS SENSITIVOS

Nuestras observaciones han recaído en los ganglios raquídeos de conejo y perro. En este último animal hemos examinado, sobre todo, el plexo gangliforme del vago, extraído después de la muerte ó en las últimas fases de la dolencia. En el conejo, en cambio, nos ha sido dable estudiar todas las gradaciones anatomo patológicas desde el séptimo al noveno día de la inoculación.

Según era de prever, en el conejo, las alteraciones de los ganglios raquídeos y del trigémino y vago son muy poco acentuadas el séptimo día, y sólo aparecen abundantes y expresivas durante la fase paralítica total. De todos modos, en cuanto la hemiplegia comienza es dable ya descubrir algunas alteraciones que sólo afectan corto número de neuronas. En esta fase inicial, el cambio más significativo observado es la *hipertrofia de las neurofibrillas superficiales*.

Hipertrofia neurofibrilar. — Según se aprecia en la fig. 1, *d*, el citado cambio recae á veces, aunque no siempre, en las células rodeadas de elementos capsulares proliferados (lesión de van Gehuchten), y se caracteriza por la presentación, en la capa cortical del protoplasma, de cordones recios, intensamente coloreados y dispuestos en mallas irregulares, pero mucho más extensas que las del retículo normal.

La presencia de delicada estriación longitudinal al aparecer estos cordones, hace sospechar que la lesión proviene de la concurrencia y fusión de varias neurofibrillas próximas. El protoplasma modificado varía mucho en espesor, siendo al principio muy delgado. Por lo común, cesa de repente, hacia adentro, sin transiciones, continuándose con la masa principal del retículo, poco ó nada cambiado y, á veces, difícilmente perceptible. En cuanto á la expansión de la célula, exhibe aspecto normal, pudiendo sorprenderse sus vueltas y revueltas á través de las pléyades de corpúsculos pericelulares, los cuales, cuando son muy abundantes, penetran entre las flexuosidades de dicha prolongación, abriéndolas y hasta apartándolas notablemente en ciertos casos (fig. 2, A). A cierta distancia obsérvase la cápsula, limitando el acúmulo de elementos embrionarios. En fin, el núcleo suele permanecer en su sitio.

En período ulterior, la hipertrofia se corre á la totalidad del retículo, apareciendo éste con gran variedad de aspectos y disposiciones.

En general, los cordones se presentan casi aislados ó escasamente anastomosados, engendrando un plexo complejo cuyos trabéculos, obscuros y recios (fig. 2, B, C), destacan admirablemente sobre el fondo, débilmente coloreado. Entre los cordones no es posible percibir ningún filamento secundario. Semejante disposición, confirmada por Marinesco, es, sobre todo, comunísima en el perro (último período), donde abundan mucho retículos de cordones colosales. En el conejo es más rara, no alcanzando jamás las neurofibrillas el excepcional espesor que en dicho animal.

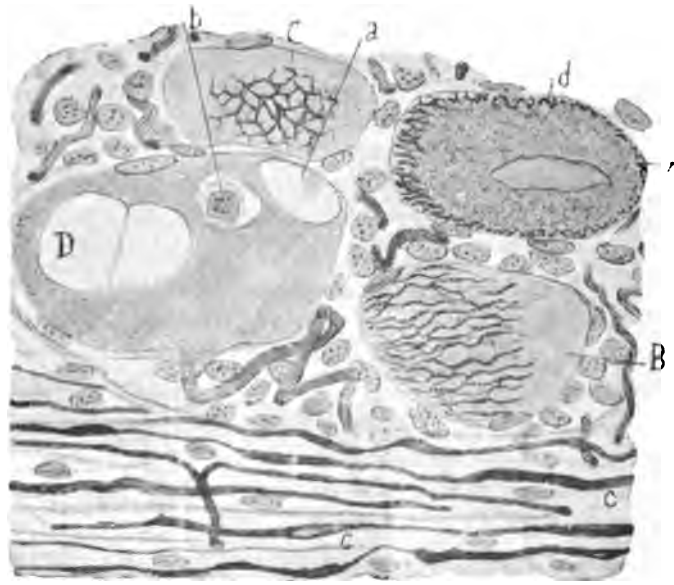


Fig. 1. — Células gangliónicas sensitivas del conejo rábico (periodo terminal). — A, célula con neurofibrillas superficiales hipertróficas ; B, otra parecida, pero enfocada en un plano superior ; C, otra en que comienza la alteración ; D, elemento con vacuolas, núcleo tangencial y leucocitos interiores (*b*).

Semejante independencia es, empero, más aparente que real. Un análisis cuidadoso de los cordones hipertróficos más largos, permite sorprender constantemente en éstos divisiones y anastomosis en ángulos agudos. En realidad, pues, el conjunto de tales plexos representa una red de mallas amplias y larguísimas. De todos modos, no es menos cierto que la inmensa mayoría de los filamentos cortos ó secundarios ha desaparecido, y que el armazón celular, visto á regulares aumentos, semeja á manojos de lombrices ó á fajos de fibras elásticas recias é independientes.

Como variantes de la susodicha disposición, pueden tomarse : el *retículo denso* (fig. 2, A), es decir, el formado por recios trabéculos, enlaza-

dos entre sí y limitando mallas amplias poligonales; el *retículo flojo*, compuesto de cordones colosales, poco anastomosados, espiróideos ó flexuosos, y limitantes de grandes huecos (fig. 2, B); el *retículo fasciculado*, en el cual los cordones se disponen en haces curvilíneos que rodean el núcleo ó siguen direcciones caprichosas (F); el *retículo con cintas* ó fajas coloreables homogéneas, resultantes, acaso, de la fusión de muchos cordones gruesos, según se aprecia en la célula de la fig. 2, E, en cuya zona

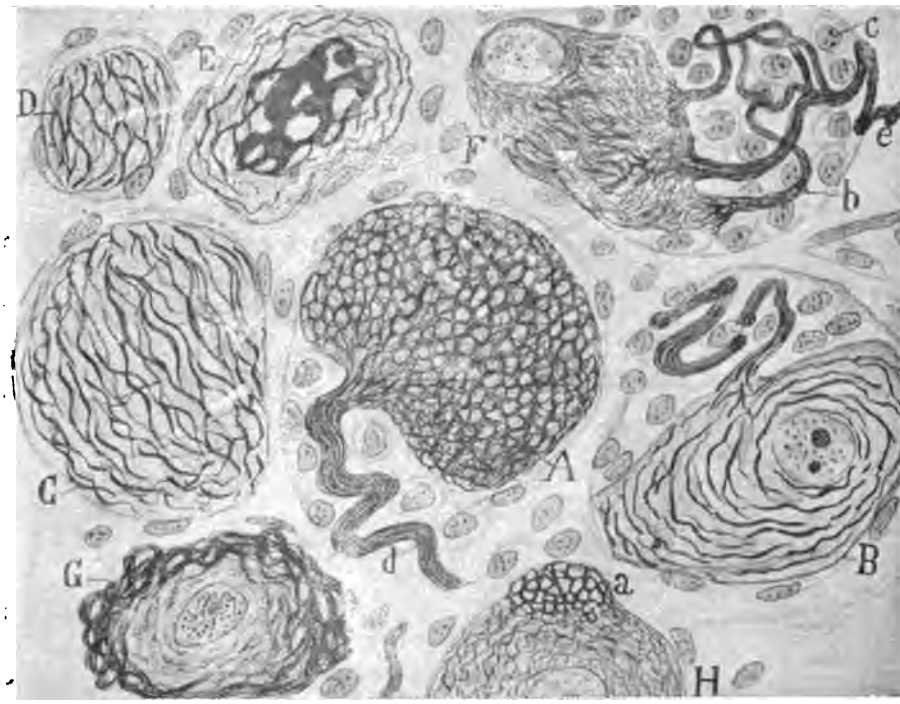


Fig. 2. — Trozo de ganglio plexiforme del vago en el perro hidrófobo (período terminal).— A, célula con trabéculas estriadas donde comienza la fusión de las neurofibrillas; B, C, D, células con cordones recios y flojos; E, célula cuyos cordones centrales se han fundido en anchas cintas; F, corpúsculo con cordones extracelulares anastomosados; G, célula con bordes superficiales; H, célula con hipertrofias locales salientes del retículo.

cortical persisten aún hilos sueltos, fusiformes, no excesivamente voluminosos; el *retículo rizado*, formado por elegantes y densos bucles negros situados en la capa cortical del protoplasma y dispuestos en asas, tirabuzones, zigzags, etc., que recuerdan enteramente el aspecto de los manojos de fibras elásticas (fig. 2, G).

La referida alteración hipertrófica de las neurofibrillas se presenta

también en los elementos gangliónicos pequeños (fig. 2, D), donde se ven, á menudo, excelentes y complicados ovillos. Sin embargo, en tales corpúsculos no aparece la variedad considerable de formas reticulares que en las gruesas células gangliónicas.

La mayoría de estas formas y otras que, en obsequio á la brevedad, no detallamos, obsérvanse en el plexo gangliforme del perro. Es de notar que los referidos cordones colosales no presentan igual diámetro en toda su longitud, antes bien, es muy frecuente hallar en ellos espesa-

Fig. 3. — Células del plexo gangliforme del perro rábico. Ultimo período (fórmula primera de impregnación). — A y B, células con vacuolas grandes llenas de bastoncitos ; C, célula con finas vacuolas y núcleo periférico.

mientos fusiformes y cabos adelgazados, por los cuales se enlazan de ordinario con los hilos vecinos.

Células vacuoladas. — Señaladas por diversos autores y últimamente por Marinesco, las vacuolas parecen indicar un grado de alteración protoplásmica más avanzado que el estadio hipertrófico del retículo. En nuestros preparados vénse células con vacuolas finas y células con huecos ó vacíos considerables. La primera disposición es comunísima en las células gangliónicas del perro y conejo (último período) y particularmente en las impregnadas con la primera fórmula.

Como se ve en la fig. 5, A, el protoplasma exhibe aspecto casi homogéneo ó ligeramente granuloso. Y en este fondo teñido de café más ó menos intenso, destacan por claro infinidad de vacuolas ó espacios redondeados, de variable dimensión, aunque dominando las exíguas. Células hay donde sólo se reconocen dos, tres ó cuatro huecos de este género (fig. 3, *b*); en otros elementos, las vacuolas, mucho más finas y próximas, convierten el protoplasma en una esponja. En general, nos ha parecido que la presencia de muchas vacuolas coincide con hinchazón notable del cuerpo celular.

Un hecho singular propio del estado vacuolado, es la presencia dentro de los vacíos de unos finísimos bastoncitos en número de dos, tres ó más, y coloreados de matiz pardo, por lo común algo más obscuro que el contenido vacuolar ó citoplasmático. Cuando, según ocurre en las preparaciones del plexo gangliforme del perro, el protoplasma se impregna intensamente (primera fórmula), percíbense mucho mejor los referidos palitos. En el conejo aparecen bastante más pálidos, siendo en ocasiones imposible observarlos á causa de la exígua afinidad que tales filamentos revelan para con el nitrato de plata (fig. 3, *a*, *b*).

La dimensión de los consabidos bacilos es muy exígua. Su diámetro mide poco más ó menos 2 décimas de μ, y su longitud no excede de 3 ó 4 décimas, cifras que varían algo según la intensidad de la coloración, y que damos solamente á título de aproximadas, dada la dificultad de medir formas tan exíguas con micrómetros centesimales. Examinando atentamente su constitución, se nos muestran á la manera de filamentos pálidos y delgados en su centro y enreciados y redondos en los extremos, á semejanza del bacilo tifoso y del microbio de la peste. Por lo común preséntanse cruzados dentro de la vacuola ó dispuestos en fajos irregulares. No existe vacuola sin palito, por lo menos en las células fuertemente teñidas, lo que autoriza á presumir no faltan en los espacios claros de los corpúsculos débilmente coloreados. Añadamos aún que los tales bacilos habitan, aunque en menos cantidad, en el líquido cefalo-raquídeo, en los conglomerados leucocíticos de las neuronas de la médula, y hasta en el plasma de la sangre coagulada del interior de los vasos.

¿Qué debemos pensar de tales formas?

Si nuestro encuentro hubiera sido hecho en una época anterior al descubrimiento en los núcleos y protoplasmas fijados por diversos reactivos (Mann, Lenhossék, etc.) de formas bacilares cristaloides de varias dimensiones; si nosotros mismos no hubiéramos hallado finísimos y flexuosos bastoncitos, enteramente semejantes á bacterias, en el núcleo de los granos del cerebelo y en infinidad de corpúsculos nerviosos; si en fin, la presencia de sutilísimos hilos bacterioides no se sorprendiese de vez en cuan-

do en el interior de los vasos de animales absolutamente normales, habríamos sentido acaso inclinación á estimar los tales palitos de naturaleza parasitaria. Mas atendiendo á las referidas razones, y teniendo en cuenta además la dimensión ultramicroscópica asignada al microbio de la rabia por recientes experimentadores (Remlinger, Vestea, etc.), pensamos que las formas en cuestión representan meros precipitados cristalinos sobrevenidos en el citoplasma de las neuronas.

Como variantes de la disposición vacuolada pueden considerarse: *a)* las *células tiyroidès*, es decir, aquellas cuyo armazón está salpicado de motas obscuras á modo de gruesas nudosidades, dentro de las cuales aparece una fina é irregular vacuola (figura 3, *b*); las *células tuberosas* (fig 2, H, *a*), cuyo retículo, poco alterado, exhibe en uno ó varios puntos de su periferia una placa ó abultamiento obscuro en donde las trabéculas neurofibrilares se hipertrofian notablemente, se colorean más intensamente que el resto y limitan anchos huecos transparentes.

Fig. 4 — Célula gangliónica sensitiva (vago) del perro. Período terminal (fórmula primera).—*a*, expansión nerviosa ; *b*, dendritas de nueva formación ; *c*, fagocito intraprotoplásmico ; *d*, células embrionarias constitutivas del nódulo de van Gehuchten.

Células fagocitadas ó con agujeros y fosetas.—Por nuestro procedimiento de coloración pueden seguirse muy bien las fases del proceso de fagocitamiento y destrucción descritas por van Gehuchten y Nelis en los ganglios del perro, gracias á la intensa coloración parda ó café ofrecida por las neurofibrillas y expansión ganglionar, y á la incolorabilidad de los fagocitos y demás elementos neoformados constitutivos del tubérculo ó nódulos pericelulares.

En las figuras 4 y 5, presentamos algunas de las etapas destructivas del protoplasma ganglionar del perro. Como se ve por debajo de las células neoformadas, de forma poliédrica (neuronófagos) y provenientes, verosímilmente de los corpúsculos especiales endocapsulares (descritos por uno de nosotros y Oloriz, y confirmados por Retzius), el protoplasma aparece salpicado de fosetas periféricas, en donde se enclavan otros tantos elementos pequeños, de núcleo esferoidal, coloreados en pardo claro. Algunos fagocitos penetran hondamente en el protoplasma y se albergan en una vacuola cerrada de gran dimensión (fig. 4, *c*). Durante esta fase

el retículo de neurofibrillas se conserva todavía coloreable, exhibiendo, por lo común, filamentos moderadamente recios, apretados, que engendran plexo complicado y difícil de analizar. En ocasiones, los hilos de la expansión nerviosa se muestran como apartados y ondeados, destacando con singular claridad. No es raro hallar también en esta fase ciertos elementos de retículo poco perceptibles, salpicado de vacuolas finas.

En un estadio más adelantado del proceso fagocitario, el cuerpo celular afecta figura estrellada con expansiones gruesas, cortas y romas, separadas por profundas escotaduras donde se albergan los neuronófagos (fig. 5).

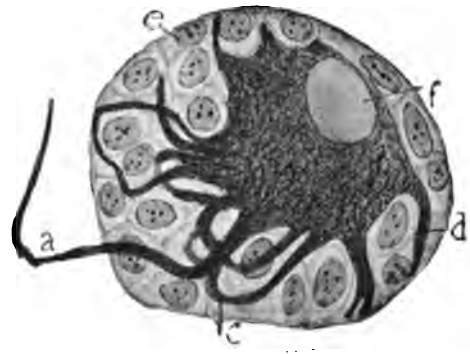


Fig. 5. — Célula fenestrada del plexo gangliforme del vago (perro). — *a*, expansión nerviosa; *c*, asas protoplásmicas; *d*, dendrita de neoformación; *f*, núcleo; *e*, células embrionarias del nódulo rábico ó de van Gehuchten.

Células con pseudodendritas y protoplasma fenestrado. Semejantes elementos, muy comunes en el plexo gangliforme del vago (perro en último período de la rabia), constituyen una de las lesiones más curiosas de la anatomopatología neuronal y apropiadísima para poner de manifiesto la enorme fuerza de reacción y resistencia á las violencias mecánicas de que goza el armazón neurofibrilar.

Fig. 6. — Otra célula del plexo gangliforme del vago (perro), donde se veía un largo apéndice (*b*) neoformado y muchas vacuolas.

En realidad, esta lesión no es sino la exageración de la fase anterior ó asteriforme, con intervención probable de un proceso de irritación y crecimiento de las neurofibrillas en lucha con los fagocitos.

Del contorno celular, y muy á menudo de la región de que brota la expansión nerviosa, los conos periféricos situados entre los fagocitos crecen notablemente, constituyendo cilindros macizos de neurofibrillas hipertróficas, los cuales trazan revueltas por entre la plé-

yade fagocitaria pericelular. Algunos de estos apéndices acaban libremente, pero es todavía más común verlos retornar hacia la célula, tras variable itinerario, describiendo amplias asas, ya mediante anastomosis con otros cilindros brotados directamente del soma, ya desembocando en el trayecto del axon ó de algún otro cordón pseudodendrítico semejante. En la fig. 5 y 2, mostramos las disposiciones más típicas halladas en el plexo gangliforme del perro. Nótese cómo en algunos casos los cordones se anastomosan con la expansión nerviosa, que conserva sus neurofibrillas, y puede seguirse fácilmente más allá de la cápsula (fig. 5, *c*). Ocioso es decir que por consecuencia del acúmulo fagocitario, el glomérulo ha desaparecido.

Fig. 7. — Célula atrofiada y en vías de destrucción (plexo gangliforme del pneumogástrico en el perro). — A, protoplasma gangliónico ; *a*, neuronófagos.

Finalmente, y á pesar de la resistencia ofrecida por las neurofibrillas, encuéntranse células en que el soma se reduce, de cada vez más, en tamaño, viniendo ú parar en una masa granulosa é irregular rodeada de formidable cohorte fagocitaria. Las neurofibrillas dejan de colorearse ; acaso han sucumbido víctimas de una especie de degeneración granulosa, semejante á la hallada por Marinesco en los animales tetanizados. El axon mismo, tan refractario comunmente á la degeneración, parece haber roto su enlace con el protoplasma celular, si bien tal interrupción pudiera ser aparente y depender de la incolorabilidad de la porción inicial de dicha expansión. En esta fase terminal, todo rastro de asas y redes cordonales extracelulares ha desaparecido también (figura 7).

En suma ; el proceso de la atrofia de las células gangliónicas fagocitadas pone de manifiesto tres hechos de interés :

1.° La enorme resistencia de las neurofibrillas á la agresión fagocitaria. En presencia de las células leucocíticas y embrionarias, dichos filamentos no se dejan mutilar ni interrumpir ; antes bien, responden al estímulo, hipertrofiándose y disponiéndose en fascículos densos que se apartan de los agresores. De este modo, los fagocitos, rechazados del retículo, sólo pueden hacer presa en el citoplasma, donde labran vacuolas más ó menos extensas. Quizá intervenga aquí alguna acción quimiotáctica negativa de las neurofibrillas.

2.° La capacidad que poseen las neurofibrillas estimuladas, de crecer

hacia afuera, engendrando cordones penetrantes en la masa de células embrionarias, cordones susceptibles de ramificarse y anastomosarse.

Ciertamente, las disposiciones fenestradas que traducen esta capacidad, pudieran explicarse también por perforación fagocitaria del protoplasma, y progresivo ensanche de las brechas convertidas en ojales; mas el espesor casi constante de los cordones, la colorabilidad y robustez de sus fibras, la complicidad de las mallas, la persistencia de la expansión principal y, sobre todo, el hecho de que los referidos cordones extracelulares recorran enteramente el tubérculo rábico ó acúmulo celular hasta sus confines, parecen indicar que el proceso generador de pseudodendritas y mallas cordonales es esencialmente activo, desempeñando en él papel importante la capacidad de crecimiento, ramificación y anastomosis de las neurofibrillas.

3.° La resistencia del axon. En efecto, aun en células muy avanzadas en atrofia, y cuando el retículo deja de teñirse, la expansión principal puede subsistir, cabiendo perseguirla, á veces, hasta la bifurcación, lo que no quiere decir precisamente que se mantenga incólume.

Núcleo. — Este órgano se conserva con volumen, forma y posición normales en la mayoría de las células provistas de retículo hipertrofiado. A veces, sin embargo, cuando el proceso hipertrófico llega al máximo, y más frecuentemente aún en los estados vacuolados y fenestrados, el núcleo se hace periférico, tocando la membrana (fig. 5). De todos modos, es preciso reconocer que el núcleo reacciona á los excitantes patológicos mucho después que el retículo celular.

Tocante á la estructura, hay pocas alteraciones. Desde luego cabe afirmar que todas las células amarillentas, cuyo retículo aparece poco impregnado, con hilos sueltos, débilmente hipertrofiados, ofrecen un núcleo normal, esto es, provisto de uno ó dos conglomerados de esferas pardas y algunos, poquísimos, granitos sueltos, que, en los preparados fijados con alcohol, suelen colorearse más enérgicamente que los nucleolos. Mas, en cuanto la hipertrofia del retículo se acentúa, el nucleolo se tiñe muy débilmente, siendo imposible analizar su contenido en las células desorganizadas ó en vías de destrucción. En cambio, las esférulas finas y negras dispersas en el nucleo-plasma continúan coloreándose, aumentando notablemente en cantidad. A veces, se encuentra el jugo nuclear completamente lleno de estos granitos negros, cuya significación ignoramos. Marinesco, que ha confirmado esta multiplicación de los cuerpecitos accesorios, la considera como signo característico de la infección rábica. Pensamos, sin embargo, que para aceptar tal conclusión es preciso emprender observaciones más atentas que las hechas hasta hoy acerca de la constitución normal del jugo nuclear, pues bien pudiera suceder que la

mayor ó menor abundancia de las referidas partículas no proviniera de un acto de multiplicación, sino de algún cambio químico en cuya virtud, esférulas preexistentes, rara vez coloreadas, adquirieran gran afinidad por la plata.

Fibras nerviosas del ganglio. — Según es bien sabido, todos los ganglios raquídeos y craneales, poseen dos clases de fibras nerviosas sensitivas, nacidas en ellos, y simpáticas.

Sensitivas.—Son indudablemente las más alteradas, aunque, en general, no lo están tanto que no se puedan impregnar y seguir en todo su itinerario. Coloréase igualmente la división y sus dos ramas, interna y externa. Por lo común, la lesión ofrecida por tales fibras consiste en hipertrofias ó ensanchamientos locales, fusiformes ó irregulares, que alternan caprichosamente con porciones estrechadas ó adelgazadas, y más débilmente coloreables. Subsisten las estrangulaciones de Ranvier, pero exagerándose mucho el ensanchamiento del axon que las precede.

A veces, en los grandes espesamientos adviértense vacuolas prolongadas, y como deshilachamiento ó flojedad de las neurofibrillas. Tales cambios de los axones sensitivos guardan, naturalmente, relación con la intensidad de las lesiones celulares. Por lo cual, en el plexo gangliforme del perro muerto de rabia, están mucho más acentuadas que en los ganglios sensitivos comunes, y, sobre todo, que en los centros correspondientes del conejo, donde, según se sabe, los trastornos gangliónicos no alcanzan nunca gran intensidad. En nuestro juicio, la disposición moniliforme exagerada de las fibras, y la exígua aptitud de impregnación de éstas, son contemporáneas de los estados de atrofia, fenestramiento y vacuolización de los cuerpos celulares; la simple hipertrofia de las neurofibrillas, y más cuando recae solamente en la capa protoplásmica superficial, no se acompaña de trastornos de las fibras nerviosas. Por esta razón, en el conejo del séptimo día de la incubación, en el cual los ganglios exhiben tan solo algunas pocas células con cordonamientos superficiales, suele faltar toda alteración ostensible de los conductores sensitivos.

Fibras meduladas motrices. — En los cortes longitudinales del ganglio del pneumogástrico (perro y conejo), la mayoría de las fibras motrices descendentes, nacidas en el bulbo raquídeo, parecen incólumes. Tampoco presentan alteración ciertas fibras finas débilmente coloreadas y probablemente de naturaleza simpática, que se observan en los ganglios comunes.

MÉDULA ESPINAL

Este órgano, con el bulbo y cerebelo, presenta las metamorfisis neurofibrilares más ostensibles, y las más apropiadas al diagnóstico neurofibri-

lar de la rabia, por la comodidad y expedición con que puede demostrarse el estado cordonal ó acintado del armazón protoplásmico.

Distinguiremos las lesiones, como en los ganglios, en tres tiempos: fase primera, correspondiente ó poco anterior á la paresia y desequilibración (del sexto al fin del séptimo día); fase segunda, contemporánea de la hemiplegia (del séptimo al octavo día); y fase paralítica ó total (las horas que preceden á la muerte).

Período inicial. — Antes del sexto día no hemos hallado sino indicios muy poco claros de alteración del retículo de los elementos espinales. Sólo al fin del sexto ó comienzo del séptimo día es cuando se inician los cambios de estructura, que recaen casi exclusivamente en las células funiculares grandes, medianas y pequeñas.

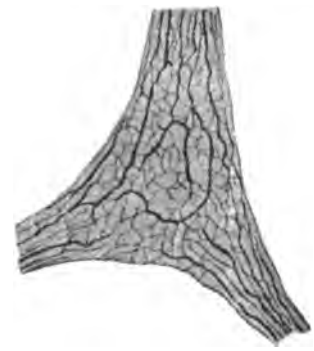


Fig. 8. — Célula funicular mediana de la médula espinal del conejo rábico, en la que comienza el fenómeno hipertrófico de las neurofibrillas.

El fenómeno primordial, fácil de estudiar en las cordonales pequeñas y medianas, consiste en un espesamiento ó hipertrofia local de algunas neurofibrillas primarias, hipertrofia que da al protoplasma el aspecto que reproducimos en la figura 18. Este aumento de diámetro no es uniforme, sino desigual, afectando á menudo forma de huso prolongado, cuyos cabos adelgazan y palidecen, perdiéndose en la rejilla general de las neurofibrillas normales. A menudo, cesa la hipertrofia en el paraje mismo de una bifurcación ó en el punto de emergencia de un filamento secundario, aunque puede sobrevenir también semejante adelgazamiento en segmentos exentos, al parecer, de divisiones. Semejante alteración hipertrófica limítase, al principio, exclusivamente al soma y origen de las dendritas, y, según indicamos en la nota preventiva, y ha confirmado Marinesco, comienza por la capa cortical del protoplasma. Cuando la lesión se acentúa más (figura 11, A) resulta un singular contraste entre esta zona tangencial, provista de colosales hilos, y el protoplasma central, casi normal y poco coloreado. En cuanto al axon y porciones alejadas de las dendritas, no presentan nada de particular.

Al propio tiempo, en las células donde se inicia el proceso (fig. 8) adviértese adelgazamiento, palidez y simplificación progresivas de los filamentos secundarios (fig. 9, G).

Segunda fase, contemporánea de la hemiplegia. — A medida que el proceso avanza, las porciones espesadas de los hilos primarios ga-

nan en diámetro, al paso que surge la hipertrofia en nuevos filamentos hasta entonces incólumes. Esta alteración se corre hacia lo profundo, y el protoplasma entero aparece construído de cordones colosales, flexuosos, intensamente coloreados, de apariencia homogénea, y con todo el aspecto de las fibras elásticas. Al propio tiempo, las trabéculas secundarias se desvanecen por completo con lo que se crean extensos espacios claros entre los hilos espesados, los cuales corren independientes y á menudo serpenteantes durante largos trayectos pasando de una dendrita á otra, ó de una dendrita al axon. No son, empero, independientes los

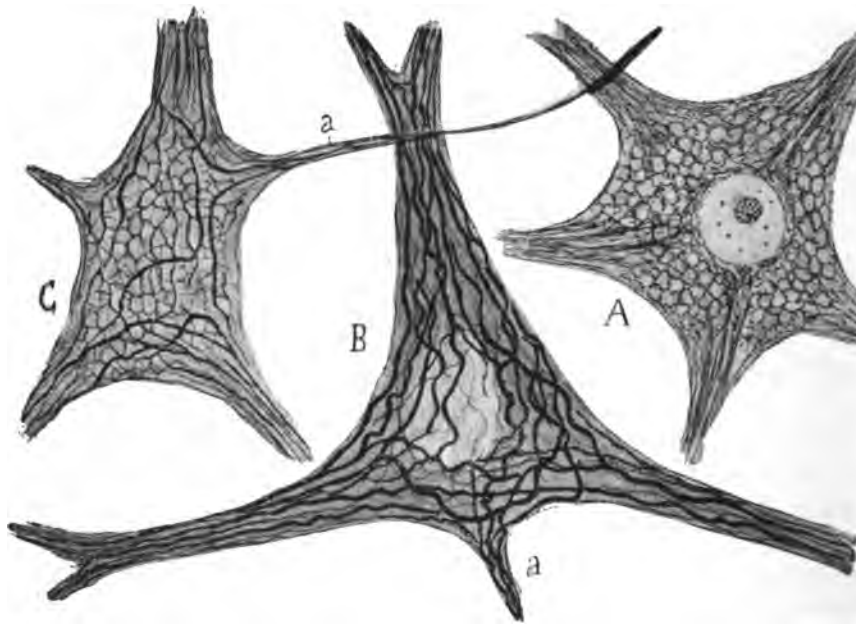


Fig. 9. — Células funiculares del conejo rábico. — A, corpúsculo normal funicular de gran talla ; B, célula con recios cordones ; C, elemento mediano en que se inicia la hipertrofia neurofibrilar.

cordones, según puede verse en las figuras 9, B y 10, A : cuando se los sigue con cuidado percíbense en ellos bifurcaciones y anastomosis en ángulos agudos con sus congéneres, constituyendo, por tanto, un armazón continuo de larguísimas mallas, de ordinario paralelas á la dirección general del cuerpo celular. La alteración se propaga también al espesor de las dendritas, aunque sin llegar jamás á las últimas ramificaciones. En cuanto al axon, sólo posee hilos algo hipertrofiados en su cono de origen ; el resto de su itinerario parece normal (*a*).

En fin, en el conejo, la mayoría de las células motrices, se conservan

sin alteración durante este período. Con todo, en algún elemento (figura 12, B), advertíase, no sólo una cordonación superficial, sino hasta retracción del protoplasma y formación de dendritas accesorias. Mas, por lo común, trastornos tan acentuados sólo suelen encontrarse en el período terminal.

La intensidad del fenómeno no siempre es igual en ambas mitades de la médula. A menudo hemos hallado en el conejo, un lado medular casi completamente indemne, y de todos modos, cualquiera que sea la intensidad del proceso, no hay que olvidar que existen siempre células funi-

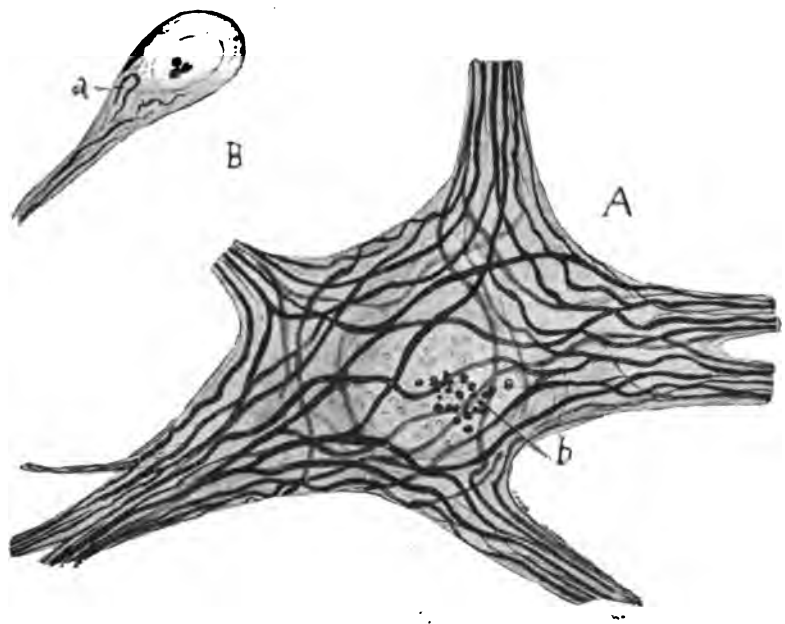


Fig. 10. — Célula funicular gigante. — B, diminuto corpúsculo de la substancia de Rolando (conejo rábico).

culares al parecer indemnes ó muy poco influídas. Existen igualmente variaciones de forma del proceso hipertrófico, que dependen, sin duda, de la estatura y categoría funcional del corpúsculo nervioso.

Así, en los corpúsculos funiculares diminutos vénse pocos, recios y generalmente muy flexuosos hilos, los cuales se siguen con extraordinaria facilidad, observándose sus bifurcaciones al llegar á las dendritas y sus anastomosis en diversos parajes, particularmente en la vecindad del núcleo. No son raras las revueltas en arco, y en asa y aun los círculos perfectos (fig. 10, B). Es de notar que, con frecuencia, se advierten cordones fuertemente coloreados en células cuyo protoplasma no revela claramen-

te neurofibrillas en estado normal. Tal ocurre con los corpúsculos de la substancia de Rolando, en los cuales, según puede apreciarse en la figura 10, dichos filamentos engruesados se localizan exclusivamente debajo del núcleo y en la gruesa dendrita descendente.

En los funiculares medianos, es bellísima y de una claridad admirable, la disposición de los cordones. Según se aprecia en la fig. 9, B, éstos son recios, serpenteantes y están separados por grandes espacios claros. No es raro ver (fig. 14) bifurcaciones al nivel de las divisiones dendríticas.

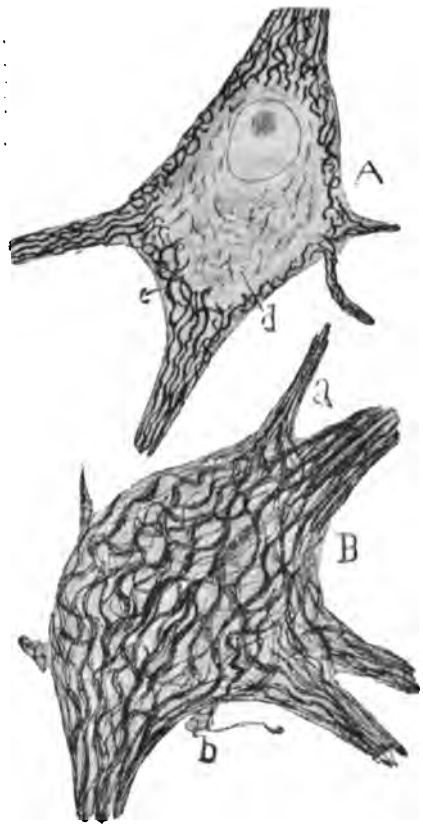


Fig. 11. — Células medulares del perro rábico.—A, gruesa célula cordonal con hipertrofia superficial de las neurofibrillas; B, corpúsculo motor con neurofibrillas espesadas y en bucles.

En las neuronas funiculares gruesas y gigantes, el aspecto de los filamentos cordonales es naturalmente mucho más complicado, tanto por el número de hilos espesados que contienen, como por las vueltas, revueltas y divisiones que en ellas se encuentran. En estas divisiones no suele existir relación constante entre el diámetro del tronco y de las ramas, las cuales pueden ser tan gruesas como el tallo, á su vez susceptible de adelgazarse progresivamente y de palidecer, sin emitir, al parecer, ninguna ramilla motivadora de tal angostamiento. Ya veremos más adelante que semejantes particularidades tienen significación valiosa para la interpretación racional del fenómeno hipertrófico. De todos modos, no hay que olvidar que, aun en la fase terminal de la rabia del conejo, encuéntranse elementos cordonales poco ó nada modificados.

En el perro, la fase de cordonamiento superficial presenta á veces una disposición en bucles de cabellos muy curiosa y muy elegante de que damos idea en la fig. 11, B. Esta disposición, que representa verosímilmente una fase inicial de la creación de grandes cordones, obsérvase tanto en los corpúsculos funiculares grandes, como en los motores, aunque á

juzgar por nuestros preparados, sería más común en estos últimos. Hagamos notar también que en este animal el número de corpúsculos funiculares que presentan hipertrofia de neurofibrillas es más grande que en el conejo. En algún caso todas las funiculares sin excepción hallábanse metamorfoseadas.

En cuanto al núcleo, es preciso confesar que durante la fase que estudiamos suele aparecer completamente fisiológico (fig. 11, A). Sin embargo, cuando el estado cordonal se exagera, iníciase un fenómeno tardío, descrito por nosotros y Marinesco, á saber: la disgregación de las esféru-

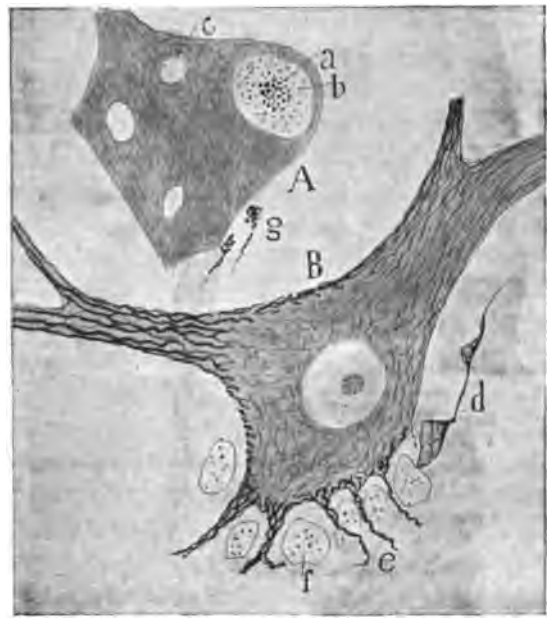


Fig. 12. — Células motrices del conejo rábico (último período). — A, célula granulosa con vacuolas y núcleo de esférulas desintegradas; B, célula con hipertrofia superficial y apéndices dendríticos probablemente de nueva formación (*e*).

las del nucleolo que se presentan, además, desiguales, más pequeñas que en estado normal y con diferencias de colorabilidad por la plata. En torno de la pléyade nucleolar adviértese un gran número de esférulas, pálidas ó negras, según que se hayan impregnado con la primera ó con la segunda fórmula. Algunas de estas granulaciones forman grupitos y parejas como si, según afirma Marinesco, previnieran de la segmentación de las preexistentes (figs. 12, *a* y 14, A, B).

En fin, en este segundo período, la mayoría de las mazas y fibras pericelulares parecen poco alteradas. Cuando más, exhiben cierta hipertro-

fia y una vacuolización del espesamiento final, que no sabemos si representa un cambio patológico enteramente nuevo, ó la acentuación y resalte de algún hecho normal de estructura.

Período terminal. — Durante los períodos anteriores reconócense, casi exclusivamente, lesiones en las células funiculares; pero, en la fase terminal, sobre que el proceso hipertrófico se corre á un gran número de elementos cordonales, comienzan también á afectarse las neuronas motrices. De todos modos, en el conejo son siempre pocos, relativamente, los corpúsculos motores participantes del proceso. En cambio, en el perro atacado de rabia paralítica (virus de la calle) hállanse en mayor número los elementos motores transformados, según puede verse en la fig. 11, B.

Iníciase asimismo, en estos elementos, el cordonamiento por la región cortical, según se echa de ver en la fig. 12, B. Pero aquí los cordones no parecen representar neurofibrillas simplemente hipertrofiadas, sino el resultado de la fusión y homogeneización de las neurofibrillas de un hacecillo. Así lo persuaden, tanto la presencia, durante las fases primeras del proceso, de estrías longitudinales en el espesor de cada cordón, como la disposición en bucles, que parece preceder á menudo, en el perro, á la producción de cintas neurofibrilares (fig. 11, B). De todos modos, cuando el fenómeno llega á su fase terminal, el cordón se muestra homogéneo, enérgicamente coloreado y separado, por espacios lineales incoloros, de sus congéneres vecinos. Dichos recios hilos pueden seguirse también, durante largos trayectos, en las gruesas dendritas. En cambio, el axon parece poco cambiado.

El núcleo, durante la fase del cordonamiento, está apenas modificado. Notemos que en la mayoría de los casos escapa al análisis por ausencia de coloración. En cuanto á su posición, mantiénese central, cuando el protoplasma conserva su colorabilidad, con hipertrofia total ó parcial de los hilos; mas en cuanto comienza el estado vacuolado y el retículo se torna granuloso, substrayéndose á la impregnación argéntica, el núcleo hácese periférico y tangencial, según han reconocido muchos autores. En tal situación no es raro sorprender en él (fig. 12, A) la disgregación de las esférulas del nucleolo y la aparición de infinitas granulaciones pálidas, diseminadas por el nucleoplasma.

Los *botones terminales* de Auerbach hipertrófianse notablemente, tanto en las células motrices como en las funiculares grandes, y se presentan desprendidos de la cubierta (fig. 12, *d*). En los casos de degeneración extrema de dichas mazas y fibras pericelulares, la substancia argentófila de las mismas parece haberse resuelto en un grumo de esférulas irregulares (fig. 12, *g*).

Ocioso es decir que, en nuestros preparados, descúbrense también con

claridad las lesiones ya descritas por los autores, tales como vacuolas del protoplasma, homogeneización é hinchazón hidrópica de éste, acumulación de células embrionarias en torno del soma (fig. 12, B), penetración de fagocitos en el cuerpo celular, estado moniliforme de las fibras nerviosas meduladas, etc.

Este estado moniliforme de los axones repárase, sobre todo, en las fibras de la comisura anterior y en muchos tubos longitudinales de la substancia blanca. Verosímilmente, casi todos los axones alterados provienen de los corpúsculos cordonales de retículo notablemente transformado.

En la fase terminal que nos ocupa, ocioso es decir que el estado cordonal se exagera en los corpúsculos funiculares, y se extiende á un gran número de ellos. Por este tiempo, si no se inicia, se ofrece con gran claridad, en alguno de tales elementos, un proceso análogo al referido anteriormente en los ganglios raquídeos, es decir, la reacción de las neurofibrillas hipertróficas contra los neuronófagos.

Fig. 13. — Célula funicular grande del conejo rábico rodeada de botones terminales vacuolados é hipertrofiados.

Con efecto, en las neuronas medianas y pequeñas más comprometidas por lo agresión fagocítica (fig. 14), muéstrase el protoplasma desprovisto de membrana y como desgarrado, surgiendo de su contorno á menudo, en ángulo recto, neurofibrillas espesas, intensamente coloreadas, que penetran en la masa celular inmediata y se terminan libremente. Entre estas proyecciones neurofibrilares yacen los corpúsculos neuróglicos neoformados ó neuronófagos y, probablemente también, algunos leucocitos. En algún caso, tales apéndices neurofibrilares hacen el efecto de cordones intraprotoplásmicos que cruzan una gran vacuola marginal submembranosa (fig. 12, *e*); pero otras veces no es posible descubrir restos de cubierta limitante del extremo de los susodichos apéndices (fig. 14, B, C). Durante su marcha extracelular, semejantes retoños del armazón pueden anastomosarse en redes complicadas, que acaso correspondan á los fenestramientos de los elementos sensitivos. Individualmente examinado cada hilo radiante, se ve que nace unas veces por división, en ángulo recto, de alguna neurofibrilla superficial del protoplasma, en otros casos representa un cordón ó un haz de cordones neurofibrilares ordinarios,

que cambian de dirección escapando del armazón general. En fin, aunque es hecho raro, la producción de cordones proyectivos se observa también en los elementos motores amenazados por los neuronófagos, como se ve en la fig. 12, B, y este fenómeno puede ser coetáneo de la fase de cordonamiento superficial.

Sea como quiera, la producción patológica de las pseudodendritas prueba, según dejamos dicho, que el retículo celular no es un sistema

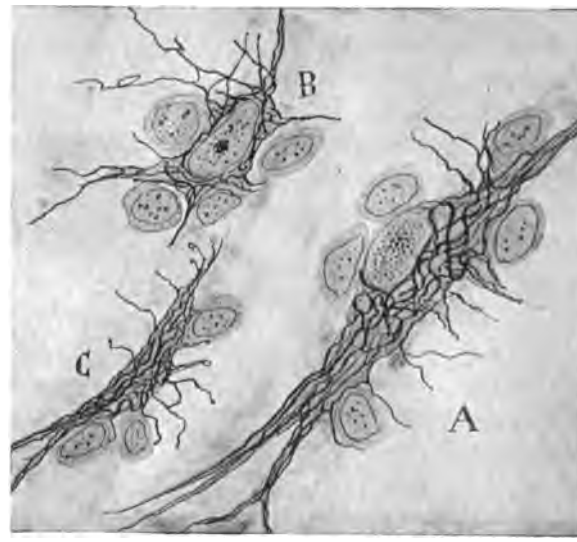


Fig. 14. — Células funiculares pequeñas del conejo rábico (período terminal) rodeadas de fagocitos y erizadas de apéndices al parecer neoformados.

conductor inmutable, sino algo vivo y autónomo, capaz de reaccionar en presencia de los estímulos y de cambiar la morfología general de la neurona y la arquitectura íntima del armazón protoplásmico.

BULBO

Las lesiones de las células bulbares son muy semejantes á las de la médula espinal, por lo cual no las describiremos minuciosamente. Haremos notar solamente que el estado hipertrófico ó cordonal de las neurofibrillas se observa de preferencia en las neuronas constitutivas de las vías cortas, tales como las yacentes en la substancia reticular gris y blanca. Bellos y recios cordones se hallan, sobre todo en las voluminosas células del rafe (altura del facial y focos acústicos) y en los corpúsculos intersticiales de la región próxima á la protuberancia.

En los ganglios acústicos se ven pocas modificaciones. Por excepción aparecen alterados los focos del vestibular y singularmente el ganglio de Deiters; sin embargo, en las gruesas neuronas de éste, la hipertrofia es poco notable y afecta solamente la porción cortical del protoplasma. Por el contrario, el nervio vestibular y sus ramas ofrecen disposición moniliforme muy acentuada, así como las vías que desde los focos vestibulares primarios corren por el suelo ventricular hasta diversas regiones de la substancia reticular blanca y gris.

A la altura del hipogloso parecen poco modificadas las células motrices de este nervio, así como las del espinal y vago (foco ambíguo). En la substancia gelatinosa del trigémino se presenta de vez en cuando algún

Fig. 15. — Célula del núcleo del nervio espinal (conejo rábico). — *a*, vacuolas; *b*, cordones estriados á lo largo; *c*, fibras nerviosas pericelulares hipertrofiadas.

Fig. 16. — Células alteradas del núcleo del cordón de Goll. — A, alteración incipiente; B, cordones gruesos (*d*).

corpúsculo grueso en fase cordonal, así como en los focos de los cordones de Goll y de Burdach, donde en algunos casos hemos hallado transformados todos los elementos. Las células A y B de la fig. 16, donde se revela claramente la alteración hipertrófica, pertenecen al ganglio del cordón de Goll del conejo. En la figura 15, mostramos un corpúsculo del nervio espinal, correspondiente al cruce de las pirámides. Este elemento resulta interesante por presentar con mucha claridad la transición entre la fasciculación y la fusión en cordones de las neurofibrillas motrices. Así mismo exhibe hipertrófico y reticulado el espesor de los botones terminales de la arborización nerviosa pericelular (*c*). Entre los haces del soma descúbrense grandes vacuolas (*a*).

Por lo demás, las alteraciones de las neuronas motrices del bulbo son tardías y relativamente raras. En este centro como en la médula, los cambios más importantes recaen en las vías cortas ó asociativas y en los corpúsculos de que emanan.

CEREBELO

Las alteraciones de este foco son muy precoces, precediendo generalmente en el conejo á las de la médula y bulbo, é iniciándose por los ganglios centrales (oliva y foco tectal) donde el estado cordonal del armazón se presenta muy aparente y semejante en su disposición al de las células funiculares del eje raquídeo. Para el análisis del cerebelo distinguiremos estas dos partes: *ganglios centrales* y *corteza cerebelosa*.

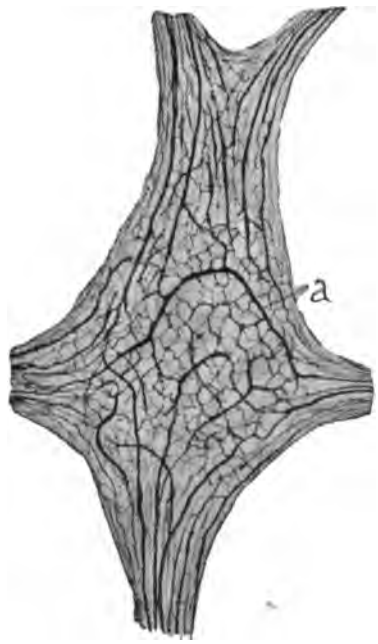


Fig. 17. — Células del ganglio tectal del cerebelo (conejo rábico) con comienzo de hipertrofia neurofibrilar.

Oliva y ganglio tectal. — En cuanto se inician perturbaciones de la equilibración (conejo de siete días), tanto la oliva como el foco tectal presentan modificaciones del armazón neurofibrilar y de las fibras nerviosas. Gracias á su magnitud, préstanse muy bien al análisis del fenómeno hipertrófico las neuronas del techo.

Según se aprecia en la fig. 17, *a*, comienza el proceso por el espesamiento de algunas neurofibrillas aisladas, á menudo curvilíneas, á expensas de la rejilla secundaria que se muestra de cada vez más pálida y fina. Dichas fibras gruesas no exhiben vestigio de estriación longitudinal, dividiéndose frecuentemente en sus extremos y resolviéndose en la red trabecular secundaria, como se veía en la fig. 17. Fibras gruesas hállanse también en el arranque de las dendritas.

En el período terminal ó paralítico, la alteración susodicha ha alcanzado su máximo desarrollo, traduciéndose por la aparición de infinidad de hilos hipertróficios, admirablemente destacados de rojo ó café obscuro sobre fondo claro, notablemente flexuosos y á veces bifurcados y anastomosados (fig. 17, *a*). Al propio tiempo, la red fina secundaria se ha des-

vanecido, desapareciendo, por tanto, aquella disposición reticular en mallas poligonales, propia del estadio anterior y existiendo en su lugar angostos y lineales espacios claros. En esta fase las dendritas se afectan también, mostrando haces de fibras gruesas que se adelgazan sucesivamente al llegar á las ramas secundarias.

Ulteriormente, es decir, hasta el momento de la muerte, los cordones pueden engrosarse, pero consérvase su número y complicación, no mostrándose nunca aquí aquella pobreza de armazón ó concentración exce-

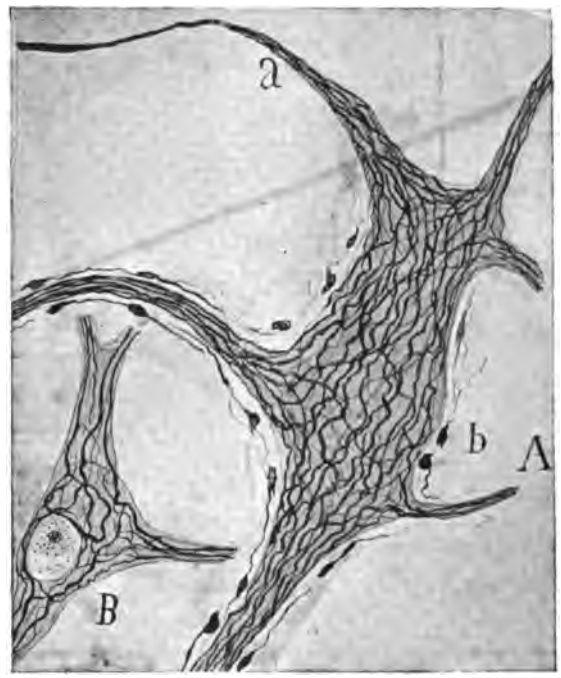


Fig. 18.—Células del ganglio del techo del conejo rábico. Fase de cordonamiento.—A, tipo grande ; B, elemento diminuto ; *a*, axon ; *b*, mazas nerviosas terminales.

siva de la materia argentófila en colosales cordones, fenómeno propio de los corpúsculos funiculares grandes de la médula y bulbo (fig. 18, A).

Naturalmente, en los pequeños elementos del ganglio tectal y oliva (figura 18, B), el armazón de hilos hipertróficos es más flojo, y por tanto, más amplios relativamente los espacios interfibrilares. Tampoco suelen faltar los espesamientos fusiformes.

En estas preparaciones percíbense también muy transformadas las fibras de la substancia blanca inmediata, así como las circulantes entre

las pléyades celulares. El estado moniliforme ó varicoso es la regla, y cuando éste se exagera mucho, el fondo general del preparado parece sembrado de esférulas sueltas. Al nivel de los espesamientos axónicos, que afectan á veces figura en huso muy prolongada, la plata se fija de un modo especial, produciendo un color café obscuro ó rojo ladrillo. En fin, las fibrillas terminales generadoras de los nidos nerviosos de los citados corpúsculos tectales y olivares se modifican á su vez, y las mazas terminales tórnanse muy varicosas, hipertrofiándose y como desarraigándose del soma y dendritas (fig. 18, *b*).

Corteza cerebelosa. — Todos los autores están contestes en que la infección lísica invade el cerebelo, produciendo lesiones más ó menos importantes. En el hombre existe una variedad lísica llamada *cerebelosa* (Paviot y Lesieur) (1), caracterizada por el predominio, en la sintomatología de la astenia y trastornos de la equilibración, y en el conejo (virus fijo) no faltan jamás síntomas acusadores de lesiones cerebelosas.

Por lo demás, diversos autores han llamado ya la atención sobre las lesiones histológicas cerebelosas (virus fijo). Así Daddi (2) ha insistido sobre la frecuencia con que en dicho centro aparecen los acúmulos leucocitarios pericelulares de Babés, y últimamente Ferré y Théze (3) han descrito en las células de Purkinje procesos muy acentuados de vacuolización y cromatolisis. En fin, á su vez, Negri (4) ha sorprendido también en dichas células sus singulares corpúsculos esferoidales coloreables en rojo por el método de Mann.

Nuestras observaciones con el método Nissl confirman las lesiones señaladas por Ferré y Thesé. En cambio, no hemos tenido la fortuna de colorear con el método de Mann las esferas de Negri, sólo vistas alguna que otra vez por nosotros en el asta de Ammon.

La aplicación del nuevo método del nitrato de plata (fijación al alcohol con ó sin amoníaco) permite añadir á las lesiones reconocidas por los autores algunas otras que asientan, ya en las células de Purkinje, ya en las cestas pericelulares, bien en las fibras musgosas, bien, en fin, en los axones de las células de Purkinje.

Células de Purkinje. — Cuando se examinan estos elementos en conejos rábicos del sexto al séptimo día de la inoculación, es decir, en el momento mismo de iniciarse las paresias y trastornos del equilibrio,

(1) *Paviot et Lesieur : Journal de physiologie et de pathologie générale*, 1902, página 677-692.

(2) *Daddi : Rivista critica di clinica medica.* Mayo, 1903.

(3) *Ferré et Théze : Comp. rend. de la Soc. de Biol.* 13 Enero, 1903. Véase también : Actas del Congreso médico internacional de Madrid, 1903.

(4) *Loc. cit.*

diríase que tales elementos se mantienen en estado normal, dado que exhiben el armazón protoplásmico delicado y complicadísimo que les es peculiar, y ofrecen bien ostensible la estriación longitudinal de los gruesos tallos dendríticos. Sin embargo, una observación atenta recaída sobre gran número de corpúsculos, nos hará ver pronto que el estado del retículo protoplásmico no es uniforme en todos ellos, y que, á semejanza de lo ocurrido con los elementos de la médula, las neurofibrillas pasan también por una fase hipertrófica.

Según se aprecia en la fig. 19, *a*, *b*, el protoplasma de algunas células exhibe con perfecta claridad unos hilos relativamente gruesos (pero mucho más delgados que los de las células del techo), fusiformes, más ó menos ondeados y separados por grandes espacios, rellenos al parecer de

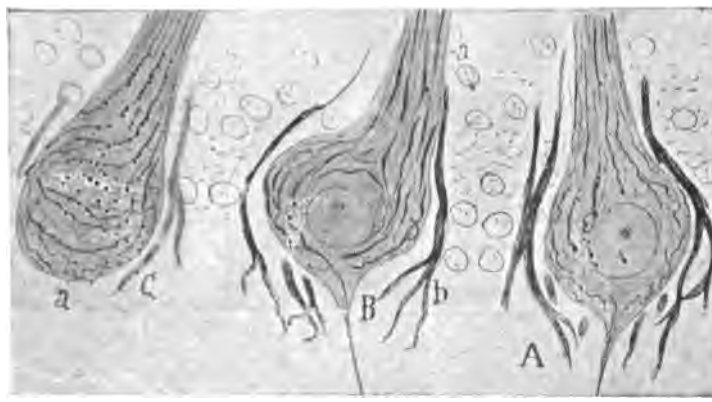


Fig. 19. — Células de Purkinje del conejo rábico (fase inicial del proceso).—*a*, hilos espesados ; *b*, fibras de las cestas pericelulares.

espongioplasma incoloreable. Tales hilos, que parecen desvanecerse por sus cabos en hebras más finas, afectan perfecta homogeneidad y circulan de preferencia en las regiones corticales del protoplasma. Durante el enfoque ecuatorial comprensivo del núcleo, no se les puede seguir bien, mostrándose cortados en varios parajes; pero si el enfoque es periférico, se advierte (fig. 19, *a*), que siguen de preferencia trayectos transversales ó arciformes en la porción inferior del soma, dirigiéndose después oblícuamente hacia el arranque del tallo en que se hacen paralelos. Casi nunca se los encuentra ramificados, ni es fácil discernir su enlace con el fino y pálido retículo intersticial, de que representan verosímilmente trabéculos hipertrofiados. De vez en cuando, los más inferiores convergen en el axon, particularidad que aparecía en las células copiadas en la figu-

ra 19, A. En fin, tales cordones, de ordinario finos, ofrecen diverso grado de espesor y de concentración de la materia argentófila, según se notará comparando entre sí las células de la fig. 19.

Los citados hilos hipertróficos agrúpanse en haz en el tallo radial, pero no parecen continuarse hasta las ramas secundarias, cuya estriación longitudinal se presenta con caracteres de normalidad.

En el perro, no suelen faltar nunca lesiones de las células de Purkinje (período último). En nuestros preparados del can hidrófobo es frecuente ver el protoplasma separado en dos regiones, una superior ó principal,

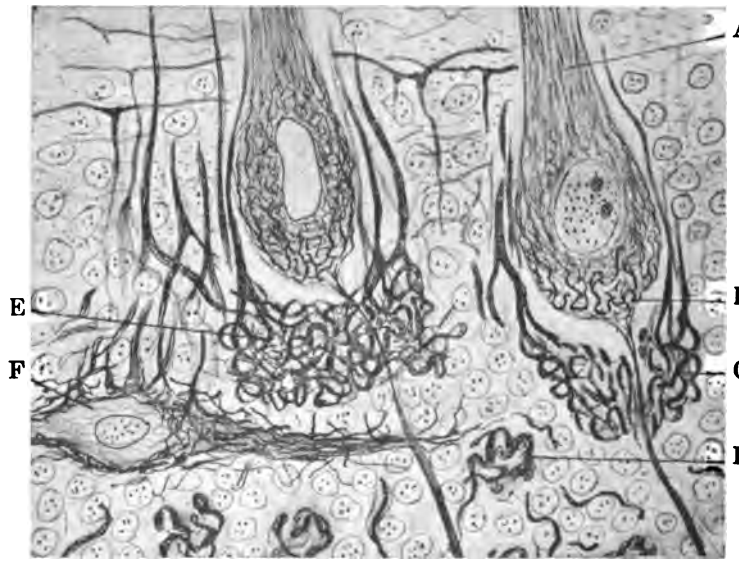


Fig. 20. — Células de Purkinje y cestas nerviosas en el perro rábico. — A, tallo radial con poco espesadas neurofibrillas ; B, porción basilar con hebras gruesas ; C, cesta poco modificada ; E, cesta muy transformada ; F, corpúsculo fusiforme horizontal.

obscura, poco alterada, y otra infranuclear ó básica, más clara, y continuada con el axon. En este último territorio es donde se muestran de preferencia los hilos hipertrofiados, que son más espesos y abundantes que en el conejo y se disponen á menudo en asas y revueltas complicadas (fig. 20, B). El resto del protoplasma, es decir, toda la masa supranuclear y una zona no muy espesa inferior, exhibe un retículo menos alterado. No faltan, empero, tanto en el perro como en el conejo, células de Purkinje completamente normales, y esto aun en los últimos períodos de la hidrofobia.

En las postrimerías de la infección rábica del conejo, la lesión hiper-

trófica de los hilos es rara y aun llega á desaparecer, advirtiéndose, en cambio, un gran número de corpúsculos de Purkinje encogidos, atrofiados y tan pálidos, que es imposible discernir rastro de retículo. Por consecuencia de este encogimiento, una gran parte del espacio ocupado antes por el soma se rellena de elementos neuróglicos (células epiteliales de la capa de Purkinje), células quizá en parte neoformadas. Por lo demás, la referida atrofia es en ciertos preparados tan acentuada, que no es raro topar con regiones en que han desaparecido ó reducídose á exíguos

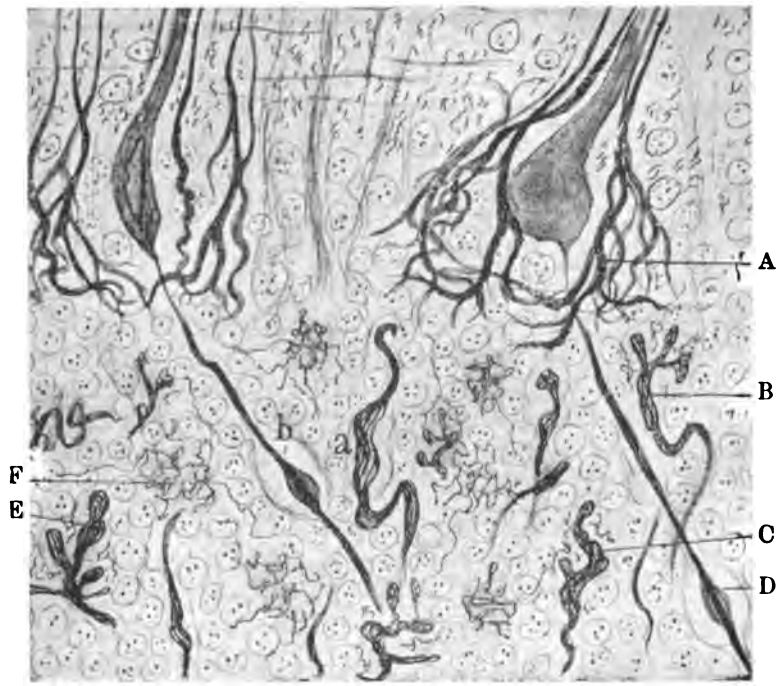


Fig. 21. — Cerebelo del conejo rábico (período terminal). — A, cestas pericelulares despegadas del corpúsculo de Purkinje atrofiado; B, C, E, arborizaciones terminales hipertrofiadas de las fibras musgosas; D, espesamientos anormales de tubos nerviosos.

é informes vestigios, series de 8 y 10 células de Purkinje. Dos cosas hay, sin embargo, que se mantienen con poca alteración, á despecho de los graves desórdenes acaecidos en el soma: las ramas dendríticas destinadas á la capa plexiforme, y el axon, que suele colorearse bastante bien, siguiéndose cómodamente hasta la substancia blanca, salvo el segmento inicial, frecuentemente pálido y muy delgado (fig. 21).

Cestas nerviosas en torno de las células de Purkinje.—El proceder del

nitrato de plata (fijación al alcohol, con ó sin amoníaco) colorea con una perfección y constancia sin rival los axones de las células estrelladas y las ramificaciones nerviosas terminales, destinadas á los nidos ó cestas de Purkinje, nidos que destacan admirablemente de color rojo café, ó negro marrón sobre fondo amarillo claro, transparente.

Otra inapreciable ventaja del método consiste en que no tiñe eventualmente tal cual cesta pericelular, sino que las impregna *absolutamente todas* y siempre con matiz enérgico y diferente del tomado por las células de Purkinje y elementos inmediatos, y suficientemente transparente además para divisar á través de las ramificaciones terminales todo cuanto existe debajo de ellas. Tales excelencias del proceder invitan naturalmente á aplicarlo al estudio de las alteraciones de las cestas susodichas, en las cuales proporciona coloraciones más espléndidas y completas, si cabe, que en el cerebelo normal.

Según podrá verse en las figuras 20, C y 21, A, las cestas pericelulares se alteran muy poco en el cerebelo rábico, manteniendo su forma, disposición y ramificaciones, sin otras perturbaciones que las dependientes de la atrofia de los elementos rodeados. En efecto; conforme la célula de Purkinje se encoge, las ramas nerviosas de la cesta se distancian, creándose entre éstas y el soma de aquélla un espacio anular, rellenado por elementos epiteliales. Tan fácil despegamiento del nido de la superficie celular, prueba, dicho sea entre paréntesis, que las fibras nerviosas pericelulares no están *incrustadas* como afirma Held, sino simplemente adheridas, á favor de algún cemento blando y poco resistente al estiramiento.

Las preparaciones en que la retracción y atrofia celulares llegan al máximo (conejos rábicos en el último período), revelan las ramas nerviosas de las cestas, no sólo apartadas (fig. 21, A), sino modificadas en su dirección y conexiones inferiores. En vez de ser rectas ú oblícuas, trazan flexuosidades y hasta tirabuzones, y las puntas agudas inferiores se repliegan horizontalmente (desapareciendo la disposición en punta de pincel), apartándose del axon y desperdigándose entre los granos más superficiales. A veces, nos ha parecido notar que algunas fibras de la cesta, ahora independientes por el encogimiento y muerte de la célula, se ramifican y crecen de un modo irregular, descendiendo en la zona de los granos bastante más que en los preparados normales. Tampoco es raro advertir en ellas flexuosidades helicoidales, cierta hinchazón y una fibrilación longitudinal exagerada. En el perro (fig. 20), las cestas se modifican también, perdiendo la punta inferior y transformándose, según se veía en la fig. 20, en una especie de plexo glomerular complicadísimo, colocado por debajo de la célula. Entre el plexo y el protoplasma obsérvase casi constantemente un amplio espacio lleno de plasma.

En cambio, las fibras transversales de la zona plexiforme, de que los citados nidos provienen, no experimentan modificación perceptible, ni tampoco los axones horizontales pertenecientes á las células estrelladas pequeñas ó superficiales. Decimos lo mismo de las fibras trepadoras, las cuales pueden seguirse muy bien, teñidas de negro á lo largo de los tallos y ramas principales de las células de Purkinje.

Fibras musgosas.—De ordinario, y cuando el proceso rábico está en sus comienzos, no se advierte en tales conductores ninguna modificación, á no ser alguna varicosidad excesiva durante su curso por la substancia blanca; pero cuando las lesiones lísicas del conejo están en su auge, es bastante frecuente hallar hipertrofias é hinchazones en las neurofibrillas de las arborizaciones colaterales y terminales, es decir, en los rosetones varicosos destinados á los glomérulos ó placas cerebelosas.

En la figura 21 hemos representado algunas de las disposiciones más comunes en nuestros preparados. Repárese que las hipertrofias mencionadas residen de preferencia en los rosetones terminales (C, B, E), que aparecen gruesos, teñidos de negro ó café muy obscuro, y con espacios interfibrilares muy aparentes. Igualmente se perciben, en ciertas excrecencias del rosetón, asas de neurofibrillas y cestitas reticuladas, disposiciones descubiertas recientemente por nosotros (1) en el cerebelo normal, y hace poco confirmadas por Bielschowsky (2), á favor de un modo particular de impregnación argéntica. En la figura 21, *a*, mostramos también neurofibrillas hipertróficas correspondientes á las arborizaciones musgosas de trayecto, y en las cuales aparecen estos filamentos apartados como si entre ella se hubiera depositado algún líquido transparente.

En nuestros preparados se presentan bien coloreadas también las arborizaciones nerviosas terminales de las células estrelladas de la capa de los granos (fig. 21, F) engendrando glomérulos delicadísimos, al parecer completamente normales. Como dentro de tales glomérulos ó placas cerebelosas no hemos encontrado arborizaciones terminales de fibras musgosas, parece probable que las llamadas placas ó territorios de contacto de la zona de los granos, no resulten siempre, como se ha supuesto, de la reunión de los tres factores de articulación (arborizaciones musgosas, ramificación dendrítica de los granos y ramificación nerviosa de las células estrelladas). En nuestro sentir habría dos especies de glomérulos: placas formadas por ciertas expansiones de los granos y las arborizaciones terminales de los corpúsculos estrellados; y placas menos numerosas quizá,

(1) *S. R. Cajal*: Un sencillo método de coloración del retículo, etc. *Trab. del Lab. de Inv. biol.*, tomo III, cuad. IV, 1903.

(2) *M. Bielschowsky u. M. Wolff*: Zur Histologie der Kleinhirnrinde. *Journ. f. Psychol. u. Neurologie.* Bd. IV, 1904.

compuestas por otras dendritas de los granos y los rosetones colaterales y terminales de las fibras musgosas. Esta separación de conexiones, imposible de hacer en los preparados de Golgi, en los cuales descubrió uno de nosotros y confirmó Held la conexión ó contacto entre dendritas de los granos y las referidas excrecencias de las fibras musgosas, es relativamente fácil en las preparaciones del nuevo método, gracias á la simultaneidad de la impregnación de todos los factores constitutivos de las consabidas articulaciones.

En el conejo rábico, ni los cuerpos de los granos ni las grandes células estrelladas de Golgi (capa de los granos) presentan alteración. En el perro, sin embargo, se nos han mostrado, de vez en cuando, hilos hipertróficos, escasos en número, en el retículo de dichas células estrelladas. En ellas hemos creído además advertir un detalle de histología normal que había escapado á nuestras pesquisas anteriores, á saber: los elementos estrellados más externos y próximos á la hilera de las células de Purkinje, entran en relación de contacto con ramas largas bajadas de las cestas pericelulares superpuestas. Semejante particularidad, notada en el perro y conejo, falta, al parecer, en los elementos de igual categoría profundamente emplazados (fig. 20, F). Acaso los elementos rodeados no sean corpúsculos de Golgi legítimos, sino ciertas neuronas fusiformes horizontales, cuyo axon desciende hasta la substancia blanca (1).

Fibras nerviosas.—Es común hallar en la substancia blanca de las láminas cerebelosas fibras moniliformes y fibras hinchadas y como hipertrofiadas á trechos; pero la lesión más singular hémosla observado en los tubos medulados que cruzan la capa de los granos.

Según aparece en la figura 21, *b*, D, algunas de tales fibras poseen, de ordinario en un solo punto de su trayecto, cierta hinchazón local considerable, de forma de huso ó esferoidal, y en la cual distínguese á menudo una zona central obscura ó eje continuado con el centro del axon y capa pálida periférica mucho más espesa y de aspecto granuloso (figura 21, D). En ocasiones nos ha parecido vislumbrar en esta recia masa cortical adventicia un núcleo, pero tan pálido y poco característico que cabe dudar de su naturaleza. En torno de estas porciones hinchadas de las fibras existe enorme hueco lleno de plasma con algún leucocito. Esta gran vacuola llena de plasma parece formada por apartamiento de los granos inmediatos, rechazados sin duda por el líquido exudado.

Semejante lesión recae exclusivamente en los axones de las células de Purkinje; ello se comprueba cuantas veces es dado perseguir suficientemente la fibra hasta su origen.

(1) Véase la obra: Textura del sistema nervioso del hombre y vertebrados, etc., tomo II, p. 352.

Lo más sigular del caso es que una disposición semejante se encuentra, de vez en cuando, en los axones de Purkinje del cerebelo normal de los animales recién nacidos ó de pocos días, coloreados por el nitrato de plata (fórmula alcohólica). En efecto, estos axones, llegados que son cerca de la substancia blanca, afectan un espesamiento más ó menos extenso, á veces de forma irregular y prolongada, pero más á menudo ovoideo. En ocasiones, de semejante esfera protoplásmica brota una colateral ascendente repartida en la capa plexiforme.

Difícil es decidir la significación de formas tan singulares que por cierto hemos hallado también recientemente en el cerebelo del hombre adulto (sujeto muerto de cerebritis crónica á consecuencia de una tentativa de suicidio).

Si dichos grumos protoplásmicos de los axones jóvenes representaran según parece verosímil, reservas de material para la formación de ramas colaterales, ó acaso también para el crecimiento del cilindro-eje, la reproducción del fenómeno en el cerebelo rábico podría considerarse como un retorno de los axones al estado juvenil ó fetal. De todos modos, este punto exige nuevos estudios.

PROTUBERANCIA Y TUBÉRCULOS CUADRIGÉMINOS

En los citados centros del conejo, al cual pertenecen nuestras preparaciones, compruébase también la existencia de hipertrofias neurofibrilares, las cuales se presentan de preferencia en las células de la substancia reticular de la calota, y en la continuación de ésta hacia arriba hasta el límite anterior del tubérculo cuadrigémino proximal. El territorio de elección para descubrir tales alteraciones es el correspondiente al área emplazada por fuera y abajo del fascículo longitudinal posterior. Las masas grises del puente de Varolio, así como la corteza y focos centrales de las eminencias bigéminas, no muestran nada de particular. Es verdad que no han sido estudiados sino en dos conejos, en los cuales hemos aplicado exclusivamente la segunda fórmula (con fijación alcohólica). De vez en cuando se percibe un principio de condensamiento en los colosales elementos del núcleo rojo y foco intersticial del fascículo longitudinal posterior En cuanto á los núcleos motores oculares, no exhiben alteración ó la presentan apenas reconocible.

En el perro no suelen faltar hipertrofias neurofibrilares graduadas en el núcleo rojo, substancia reticular de la calota y á veces hasta en algunas células del motor ocular común. Menos aparentes son las lesiones del tálamo óptico y cuerpo estriado.

CEREBRO

Cuando se trabaja de preferencia, conforme lo hemos hecho nosotros, en conejos inoculados de la rabia por trepanación craneal, nada tiene de extraño que las primeras lesiones anatómicas se presenten en la corteza cerebral. En efecto, estas son ya reconocibles, por el método del nitrato de plata, en cuanto termina el período de incubación, acentuándose progresivamente en los siguientes días hasta la muerte.

Fig. 22. — Capa plexiforme y de pequeñas pirámides del conejo rábico.—*a*, pequeña pirámide granulosa ; *b*, tallo radial de grandes pirámides ; *c*, fibras nerviosas degeneradas.

El estudio cronológico de las lesiones permite afirmar que la inflamación cortical se propaga sucesivamente de la superficie al centro. Así, del sexto al séptimo día, sólo la zona molecular y la de pequeñas y medianas pirámides parece afectada, ostentando neurofibrillas débilmente hipertróficas; mientras que en los siguientes la lesión va profundizando, extendiéndose á las pirámides gigantes y corpúsculos polimorfos. Sacrificados los animales en la proximidad de la muerte, los cambios neuro-

fibrilares más característicos se presentan en las zonas profundas, habiendo desaparecido el fenómeno hipertrófico de las superficiales (pequeñas y medianas pirámides), que afectan aspecto granuloso y se impregnan uniformemente en pardo claro ó amarillo sin selección neurofibrilar. En muchas de ellas aparece el soma rodeado de un gran número de corpúsculos neuróglicos neoformados (lesión de Babés), y más ó menos atrofiado por la presión de éstos. Conviene, empero, hacer notar que existen grandes variantes, tanto con relación á la localización como á la intensidad de las lesiones.

Detallemos ahora la disposición de los elementos que exhiben alteración bien perceptible.

Zona plexiforme.—Al término del período de incubación, esta capa revela todavía fibras nerviosas meduladas y arborizaciones terminales de axones ascendentes; pero nótase ya en muchas de las fibras aspecto irregular, varicoso y desigualdades de teñido que faltan en el cerebro normal. De las células especiales aquí habitantes, nada podemos decir, pues no atraen selectivamente el nitrato de plata.

Cuando la hemiplegia comienza, las fibras nerviosas de la capa primera palidecen, tórnanse granulosas, adoptan disposición moniliforme (fig. 22, *c*) y hasta se fragmentan y reabsorben fácilmente. Esta destrucción es sobre todo aparente debajo y en las inmediaciones del paraje inoculado.

También los penachos dendríticos muéstranse alterados. En nuestros preparados del conejo paralítico, las últimas ramas dendríticas no se presentan coloreadas, pero sí los tallos radiales y ramas terminales gruesas de pequeñas, medianas y grandes pirámides. Tales dendritas secundarias son ásperas, granulosas y exhiben neurofibrillas apenas ostensibles y discontinuas y como rotas en muchos puntos (fig. 22). En algunos territorios percíbense salpicaduras del plexo dendrítico, mezcladas con trozos sueltos de fibras nerviosas horizontales ú oblícuas.

Capa de las pequeñas y medianas pirámides.—En general, las pequeñas pirámides del conejo poseen poca selección por la plata ; así es que no es posible determinar las lesiones de sus neurofibrillas : sólo al nivel del tallo principal y ramas primarias terminales suelen aparecer éstas, que en el cerebro rábico se muestran, en ocasiones, espesadas, si la lesión es incipiente ó reducidas á un magma granuloso cuando el grado de alteración es más avanzado.

En cambio, en las medianas pirámides, el retículo se colorea con más constancia y es dable reconocer sus trastornos patológicos. En el cerebro rábico incipiente adviértense células en estas dos fases : células piramidales, cuyo soma y tallo principal están provistos de hilos numerosos, anastomosados y algo engruesados por comparación con los del cerebro nor-

mal; y otras células, ovoideas, triangulares ó piramidales, de soma casi incoloro, surcado por un corto número de cordones relativamente espesos, coloreados de negro ó café obscuro, y separados por grandes espacios claros (figs. 23 y 24).

Este último tipo celular es sumamente interesante y merece una descripción detallada.

Digamos, desde luego, que la mayoría de estas células singulares no parecen corresponder al tipo piramidal, ó de axon largo, sino más bien al tipo fusiforme ovoideo ó triangular de axon ascendente, terminado en la capa plexiforme. Sin embargo, alguna de ellas mostraba tallo radial,

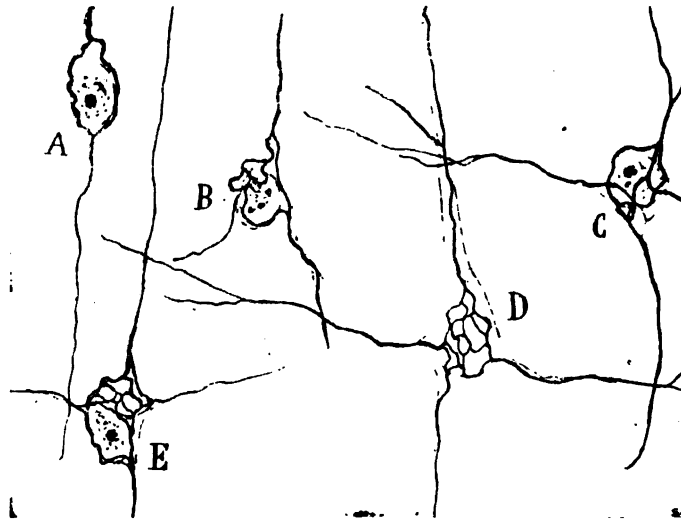


Fig. 23. — Células de la capa de medianas y pequeñas pirámides en la rabia incipiente (conejo). Fórmula con fijación alcohólica previa. — A, célula con sólo dos cordones en el soma; B, C, cordones más complicados; D, E, elementos piramidales con red compleja.

y un axon descendente, no siempre fácilmente deslindable de las dendritas, por no existir diferencias relativamente al modo de origen de las neurofibrillas, entre la expansión funcional y las protoplasmáticas.

En las figuras 23 y 24 mostramos las principales variedades de retículo neurofibrilar, encontrado en tales elementos. Nótese, desde luego, la admirable limpieza y notable espesor de las neurofibrillas, que recuerdan enteramente las magníficas redes descubiertas por Apathy en los ganglios de la sanguijuela. Esta red, que rodea al núcleo, dejando libre una buena parte del protoplasma cortical, consta de unas cuantas trabéculas recias, homogéneas, que circunscriben mallas poligonales amplias é incoloras.

Tanto el axon como las dendritas, representan la continuación de un solo cordón de la red, naciendo en ocasiones de la división de una de las referidas trabéculas, á menudo por convergencia y fusión de dos ó tres hilos (fig. 23, E, C). La posición y riqueza de la red ofrecen muchas variantes. En los casos más sencillos sólo existían en torno del núcleo dos gruesos hilos longitudinales, anastomosados en elipse, reproduciendo enteramente la disposición del retículo de las células sensitivas esofágicas del *Hirudo* (fig. 23, A); estos cordones solitarios, al juntarse en los polos, engendran respectivamente el axon y una dendrita radial.

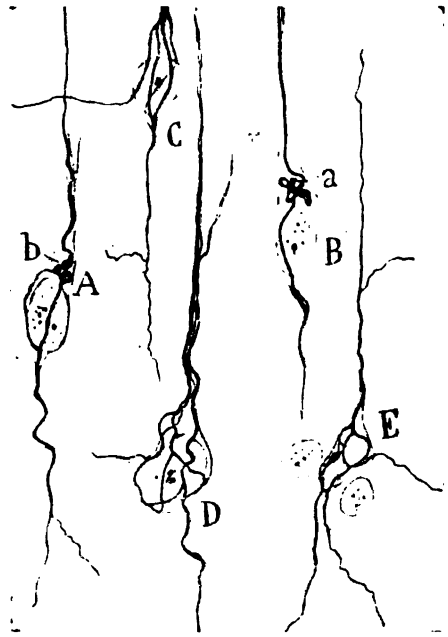


Fig. 24.—Células diminutas de las capas de las medianas y pequeñas pirámides (conejo rábico).—*a* y *b*, células con espesamientos y glomérulos neurofibrilares supranucleares; C, D, E, elementos con retículo hipertrófico más complicado.

En otras células (figs. 23 y 24), la red alcanza mayor extensión, cubriendo de malla todo el núcleo. En ocasiones, la reticulación yace exclusivamente en un lado ó en el polo superior del corpúsculo. En fin, es muy común observar, sobre todo en los retículos pobres en neurofibrillas, que éstas se repliegan en ovillo y se espesan especialmente encima del núcleo (fig. 24, *a*, *b*).

Capas de las células gigantes y polimorfas. — Aquí es donde se encuentran los retículos hipertróticos más abundantes y característi-

cos y más semejantes á los descritos en la médula espinal. Sin embargo, para hallar formas bien expresivas debe recurrirse al conejo ó perro muerto de rabia.

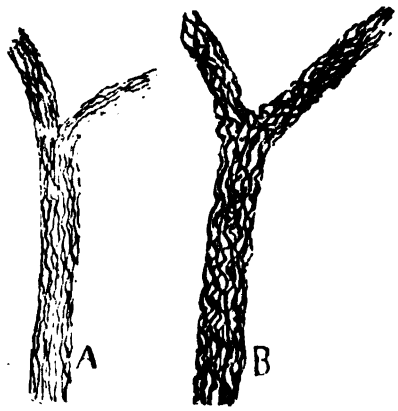


Fig. 25. — Tallos de pirámides gigantes. — A, conejo normal; B, conejo rábico.

A semejanza de las células medulares y bulbares, se traduce la hipertrofia neurofibrilar por débil espesamiento de algunos hilos superficiales, aumento de la colorabilidad de éstos y ampliación de los espacios interfibrilares; más tarde, el proceso gana gradualmente todo el espesor celular, enreciándose notablemente los cordones y creándose grandes espacios vacíos (figura 26, A, B). Algunos de tales cordones convergen en las dendritas inferiores y axon, mientras que

Fig. 26.— Células tomadas del cerebro de conejo rábico (período terminal).—A, célula piramidal gigante; B y C, elementos de la capa de células polimorfas; *a*, axon.

otros pasan, formando haz, al tallo principal, donde se prolongan largo trecho, adelgazándose sucesivamente.

Cuando el proceso rábico está muy avanzado, los elementos pericelulares proliferan, y apretando el soma y retículo producen en éstos gibosidades y procesos irritativos y neoformativos semejantes á los hallados en los elementos medulares; es decir, que las neurofibrillas, excitadas por la presión de los elementos neuróglicos, dan origen á brotes de nueva formación proyectados exteriormente. Sin embargo, este fenómeno es aquí mucho más raro que en la médula y ganglios.

En la capa de células polimorfas los cuerpos celulares exhiben la misma metamorfosis, según aparece en la figura 26, A, B.

El tallo radial de las pirámides grandes, medianas y corpúsculos polimorfos se altera mucho menos que el soma. También el axon resiste á la acción del virus rábico, presentándose de espesor normal y bien coloreado, así como sus colaterales. Sin embargo, en bastantes ocasiones hemos hallado los hilos del tallo radial más flexuosos, espesos, teñidos y apartados que en estado normal (fig. 25, B).

En el perro muerto de rabia las hipertrofias neurofibrilares de las pirámides son todavía más notables que en el conejo. Los más recios cordones se ven también en las pirámides gigantes y corpúsculos polimorfos.

ASTA DE AMMON

Aunque las observaciones de Negri parecen indicar que el proceso lísico afecta muy particularmente á este órgano, en nuestros preparados no aparece el asta de Ammon más atacada que la corteza cerebral.

Verdad que sus pirámides se colorean siempre en estado normal menos intensamente que las cerebrales, lo que podría revelar la existencia de lesiones del armazón protoplásmico.

Sólo en dos clases de células se observan alteraciones; en las estrelladas del *stratum oriens* y capa de las pirámides, y en las pirámides propiamente dichas.

Células del stratum oriens. — Poligonales, fusiformes ó estrelladas, la mayoría de tales células, según probaron nuestras observaciones y las de Kölliker, poseen un axon corto ramificado en torno del soma de las pirámides. En algunas, empero, dicha expansión asciende á la capa molecular, donde se arboriza y termina. En nuestros preparados del conejo (período hemiplégico), aparecen ya algunos elementos de este género en estado cordonal, modificación que se exagera y extiende á muchas células durante el estadio paralítico. La disposición del retículo muéstrase en la figura 27, A, B, donde puede verse que toda la fina red normal ha quedado reducida á unos cuantos cordones negros que cruzan el cuerpo celular y convergen en las expansiones, donde parecen fundirse

en cilindros negros y homogéneos. En la célula (fig. 27, A, *a*) aparece el axon intensamente coloreado y con marcha ascendente. A la manera de las células cerebrales, las dendritas de dichos elementos no ofrecen alteración perceptible, pudiéndoselas perseguir hasta su terminación.

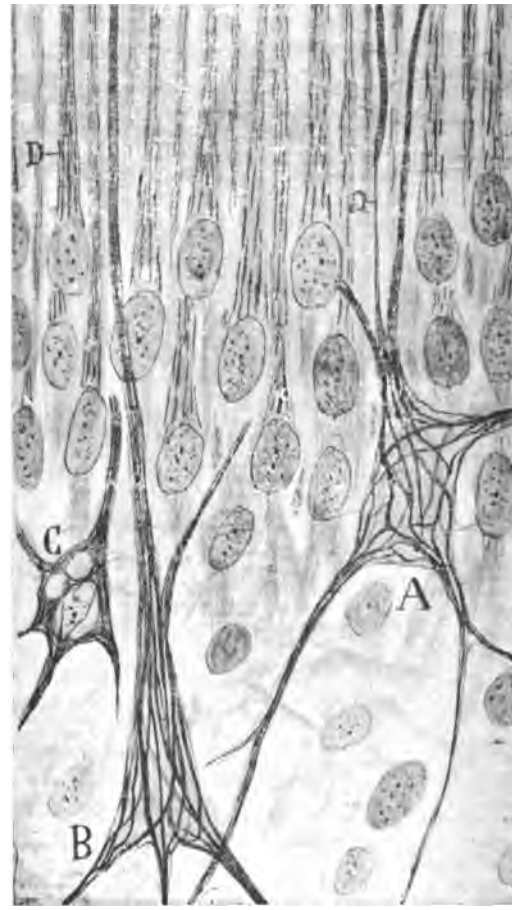


Fig. 27. - Trozo del asta de Ammon del conejo rábico.—A, célula subpiramidal de axon ascendente (*a*); B, célula del *stratum oriens;* C, corpúsculo de axon corto con vacuolas interiores; D, tallos de las pirámides con neurofibrillas fusiformes.

Células piramidales.—A diferencia de los citados corpúsculos, caracterizados por un retículo cordonado y grueso, las células piramidales de ambas regiones, superior é inferior del asta de Ammon, exhiben un armazón pálido, amarillento, en el cual destacan ligeros espesamientos fusiformes, dirigidos en sentido radial y prolongados á lo largo del tallo

protoplásmico, donde constituyen haz muy flojo. Semejantes espesamientos ofrecen coloración más obscura que el resto, y parecen continuarse con filamentos de diámetro normal y apenas perceptibles (fig. 27, D). Todas las neurofibrillas hipertrofiadas yacen, según se aprecia en la figura 27, D, en la región supranuclear; por debajo del núcleo, el protoplasma muéstrase tan pálido, que apenas se distinguen trazas de retículo.

En el perro, la lesión es aún más evidente que en el conejo, presentándose en mayor número y con superior espesor los filamentos coloreados del soma y tallo principal. Lesiones semejantes aparecen en las gruesas pirámides del subículo y circunvolución del hipocampo.

En el conejo, la citada alteración se ofrece más ostensible en las robustas pirámides de la región fimbrial del asta de Ammon que en las medianas de la región superior, donde, á menudo, la palidez y delicadeza del retículo hacen difícil la observación de los engrosamientos.

Carecen de modificación perceptible los axones y dendritas finas de todas las células del asta de Ammon, y se mantienen indemnes, al parecer, los elementos de la *fascia dentata*, los axones de los granos y la inmensa mayoría de las fibras del álveo y fimbria.

Mencionemos aún, para terminar, que en los conejos paralíticos (último período) vénse frecuentemente células vacuoladas (fig. 27, C) y pirámides con cuerpos esferoidales intraprotoplásmicos, correspondientes sin duda á los corpúsculos de Negri.

RETINA Y BULBO OLFATORIO

En el conejo paralítico (última fase de la infección), obsérvanse también lesiones en la retina y en el bulbo olfativo.

En la membrana visual, aféctanse especialmente los corpúsculos ganglionicos grandes y medianos, menos á menudo las células amacrinas. La alteración consiste esencialmente, según se ve en la figura 28, *a*, *b*, *c*, en la concentración en unos cuantos cordones fusiformes y granulosos de toda la materia argentófila de las neurofibrillas. Estos cordones se enlazan entre sí al nivel de la región supranuclear, de donde brotan las dendritas. A veces, el haz de hebras destinado al axon, fúndese en fino cilindro, que cruza aislado la casi totalidad del protoplasma, hasta enlazar con el plexo supranuclear (fig. 28, *c*, *d*). De todos modos, las alteraciones de la retina, si hemos de juzgar por los dos únicos casos en que hemos practicado este examen, son mucho menos evidentes y acentuadas que las de los demás centros nerviosos.

En el bulbo olfatorio son asiento de hipertrofia neurofibrilar las célu-

las mitrales y casi todas las empenachadas, cuyas dendritas muy obscuras síguense más fácilmente que en estado normal. En el perro, sobre todo, compruébase que el espesamiento neurofibrilar se produce por concentración en algunos hilos de la materia argentófila esparcida por todo el retículo. Los granos, así como las células estrelladas de axon corto entremezcladas con éstos, no ofrecen nada de particular.

Fig. 28.—Células gangliónicas de la retina del conejo rábico.

GÉNESIS Y SIGNIFICACIÓN DE LA HIPERTROFIA NEUROFIBRILAR

En la nota preventiva suscrita por uno de nosotros relativa á la alteración que nos ocupa, dábamos como posibles dos explicaciones del interesante fenómeno: *a*) enreciamiento de las neurofibrillas por dislocación y concentración amiboidea, en pocos filamentos primarios, del material esparcido por muchos hilos secundarios y primarios; *b*) producción de cordones ó cintas de espesor colosal, mediante aproximación y fusión subsiguiente de numerosas neurofibrillas primarias y secundarias. Marinesco, quien, según hemos dicho, se ha ocupado muy atentamente de las lesiones neurofibrilares en diversos estados patológicos, no hace hincapié en el mecanismo generador del estado cordonal de las neuronas en la rabia, pero de todos modos parece inclinarse á la primera conjetura.

Nuestros recientes y muy atentos estudios acerca de la génesis de tales espesamientos en las células de retículo flojo y de retículo denso (células de neurofibrillas fasciculadas) de los animales rábicos; la comparación del fenómeno en cuestión con el proceso hipertrófico fisiológico de los reptiles y de los vermes, nos han conducido á formular la siguiente hipótesis, que representa la reunión ó combinación de las dos posibilida-

des ó conjeturas antedichas, las cuales no son contradictorias, antes bien se completan recíprocamente, permitiendo explicar sencillamente todos los casos de transformación reticular normales y patológicos.

Comencemos por establecer una proposición, á la cual hemos aludido más de una vez en el curso de este trabajo: el retículo neurofibrilar no es un sistema de filamentos fijos, estables, meramente destinados á la conducción de la onda nerviosa, sino que representa ante todo un aparato contráctil, de virtud amiboidea y susceptible, por ende, de cambiar lentamente su forma general y arquitectura íntima, á la manera de los cordones protoplásmicos de las células de la *Tradescantia virginica* (pelos estaminales).

Cuando la célula bien nutrida vive en un ambiente normal y recibe excitaciones fisiológicas, el retículo mantiene una cierta disposición que podría llamarse *posición de actividad normal*. Mas si un excitante patológico ú otras influencias, tales como la inanición, la anemia, el reposo excesivo, el frío, etc,, vienen á obrar sobre las dendritas y soma, el aparato neurofibrilar reacciona, iniciándose la alteración por el cuerpo celular, cuyo retículo, que representa el punto de concentración de las neurofibrillas aferentes y eferentes, es mucho más sensible que el armazón de las expansiones. Semejante mutación, tiene por principal expresión anatómica visible el sucesivo adelgazamiento y desaparición de las neurofibrillas secundarias y de algunas primarias, cuya materia coloreable (*substancia argentófila* y otras imposibles de precisar) se concentra progresivamente en unos pocos filamentos primarios, de ordinario orientados en el sentido general de las ondas recogidas por la célula, ó al menos en la dirección dominante del cuerpo celular. Por consecuencia de tal concentración, crece el espesor y colorabilidad de los hilos subsistentes, al paso que se crean enormes espacios claros ó interfilares, llenos al parecer de jugo celular (1). Así en la rabia incipiente, la acumulación argentófila es todavía débil (figs. 8 y 9, C), y por tanto, percíbense aún los filamentos secundarios; mas en las postrimerías del proceso (fig. 10, A) la citada materia yace exclusivamente en algunas neurofibrillas primarias.

Las diferencias de origen y disposición de los cordones neurofibrilares entre las células motrices y los corpúsculos cordonales y asociativos (médula), resultan del contraste estructural de ambos tipos celulares. En los corpúsculos de armazón flojo y reticulado (células de axon corto del cerebro, pequeñas y medianas pirámides, células de Purkinje, corpúsculos funiculares medianos y pequeños del bulbo y médula, etc.), la concen-

(1) Esto es lo que parece; pero naturalmente no cabe excluir la existencia en los espacios incoloreables de alguna organización invisible, acaso de algún espongioplasma reticulado, cuya naturaleza fuera diferente que la del retículo neurofibrilar.

tración de la materia argentófila puede hacerse sin obstáculo en torno de unas cuantas neurofibrillas principales, aisladas y separadas por gran cantidad de citoplasma; pero en las neuronas grandes de tipo fasciculado (células motrices, funiculares colosales, grandes pirámides del cerebro, etc.), donde existen, según es sabido, numerosos hacecillos de filamentos principales, y por consiguiente, una cantidad enorme de materia argentófila, el fenómeno se complica. En este caso, la concentración de la consabida substancia se lleva á efecto, no sobre pocas, sino sobre muchas neurofibrillas, y como éstas tienen disposición fasciculada y están muy próximas, resulta que las fibras espesadas se ponen en contacto con sus congéneres de manojo, y fusionándose, acaban por engendrar una cinta ó cordón colosal.

A primera vista parece que la mera admisión de la coalescencia y aproximación de las neurofibrillas por causa patológica (acaso por consecuencia de fenómenos endosmóticos excesivos), pudiera dar cuenta del proceso del cordonamiento del retículo. Mas á poco que se medite sobre el caso se verá que, sin apelar á cambios de posición de la materia argentófila, no es posible comprender todos los fenómenos morfológicos ofrecidos por las neuronas en la rabia y en otros estados más ó menos fisiológicos. Citemos, sobre todo, el hecho, facilísimo de comprobar, del espesamiento inicial y parcial de ciertas neurofibrillas, tanto en las neuronas grandes como en las pequeñas; el fenómeno, no menos ostensible, de que el estado cordonal de las gruesas células, va constantemente precedido de una hipertrofia de sus hilos constitutivos, y, en fin, la particularidad de que aun en los robustos elementos en fase cordonal, el espesor de un mismo cordón, es desigual, no guardando proporción con el número de sus neurofibrillas constitutivas. Por lo demás, que las cintas ó columnas robustísimas de las células motrices resultan de la fusión de neurofibrillas elementales espesadas, lo persuaden la presencia de estriaciones longitudinales en algunos cordones no del todo *fundidos*, y el estado fascicular ó de *bucles de cabellos*, tan común en la médula y el bulbo del perro rábico. Naturalmente, cada bucle constituirá, llegada la fase de coalescencia, un cilindro homogéneo.

La modificación cordonal es una reacción de la célula viva. Ya en la tantas veces citada previa comunicación, uno de nosotros llamó la atención sobre el carácter vital de dicha modificación, comparándola á la descubierta por Tello en los reptiles invernantes y á ciertos fenómenos de hipertrofia neurofibrilar presentados en los embriones y animales recién nacidos. También Marinesco estima la susodicha transformación como un proceso contemporáneo de la vida celular, considerándola cual reacción primaria del retículo excitado por estímulos morbosos.

Aparte de los argumentos de analogía (á los cuales podríamos agregar todavía otro reciente hallado por uno de nosotros, á saber: la presencia de espesamientos colosales en las neurofibrillas del *Hirudo* en reposo prolongado por inanición), persuaden del carácter fisiológico del susodicho proceso de transformación estos hechos:

1.° El fenómeno hipertrófico neurofibrilar se presenta en el momento mismo que se inician los trastornos funcionales. A veces se advierten indicios de él desde el sexto día de incubación en el conejo, y antes que ningún síntoma venga á indicarnos la existencia de la rabia.

2.° Se presenta en neuronas cuyas dendritas, axon y núcleo no adolecen, al parecer, de ninguna mutación anormal.

3.° Falta por completo en los corpúsculos sumamente alterados, es decir, en aquellos en que el método de Nissl denuncia grandes vacuolizaciones, atrofia del soma, disgregación y desaparición de la cromatina, marginamiento exagerado del núcleo.

4.° En los reptiles dicho fenómeno hipertrófico constituye un hecho normal producido por el frío invernal. Basta calentar el animal durante algunas horas para hacerlo desaparecer.

5.° Preséntase, en fin, según recientes experiencias enseñan, en algunos corpúsculos nerviosos, embrionarios ó jóvenes (perro, gato y conejo recién nacidos) sometidos á la acción del frío.

No pretendemos significar con esto que la transformación neurofibrilar no comprometa la salud de la célula, antes bien creemos que cuando la hipertrofia de los filamentos y concentración argentófila son bastante acentuadas, debe producirse algún entorpecimiento funcional, en cuya virtud pudieran explicarse no pocos de los fenómenos parésicos y paralíticos de los conejos rábicos.

Desgraciadamente no es posible, sin aventurarse en el terreno de las conjeturas arbitrarias, precisar cuáles son los desórdenes funcionales imputables á la susodicha lesión, y por qué mecanismo la desaparición de los filamentos secundarios, y la concentración de la materia argentófila, oponen obstáculos á la excitabilidad de las células ó al paso de las corrientes.

Ciertamente los síntomas paralíticos pudieran referirse también á la atrofia de células y axones y al apartamiento de las arborizaciones pericelulares operada por intermedio de los neuronófagos ó por el hecho mismo del empequeñecimiento celular (corpúsculo de Purkinje, célula motriz de la médula, etc.); mas preciso es recordar que semejante fase destructora suele ser tardía, presentándose cuando los desórdenes funcionales son muy graduados, por lo cual cabría ser invocada á lo sumo para explicar la parálisis terminal, pero no los fenómenos de paresia, hipotonia, depresión é indiferencia, los cuales son contemporáneos del comien-

zo del estado hipertrófico, y pudieran muy bien relacionarse etiológicamente con éste. Además, en el esclarecimiento del cuadro sintomático deben entrar también otros factores. Una buena parte de los fenómenos paralíticos, y singularmente la hemiplegia fugaz del conejo rábico (hemiplegia que se presenta en el lado opuesto á la lesión cerebral) es preciso referirla á lesiones de las pirámides cerebrales. No menos significativas, bajo este aspecto, son las lesiones de los ganglios sensitivos y, sobre todo, del plexo gangliforme del vago, de las cuales tanto partido han sabido sacar van Gehuchten y Nelis para la interpretación de los síntomas de la rabia canina.

Desglosar lo que á cada categoría neuronal comprometida por el virus lísico pertenece en el complicado síndrome de la rabia, es empresa, hoy por hoy, harto difícil. Nosotros no la intentaremos siquiera. Bástenos consignar, á guisa de conjeturas racionales, estas tres proposiciones: 1.ª, el cordonamiento ó hipertrofia de las neurofibrillas representa un fenómeno de reacción relacionado probablemente con los estados de paresia, hipotonia, torpeza motriz, etc.; 2.ª, la atrofia y destrucción del retículo, así como las alteraciones graves del núcleo y de las expansiones motivan verosímilmente síntomas paralíticos; 3.ª, siendo el proceso lísico una inflamación difusa de todos los centros nerviosos, con determinaciones preferentes en éste ó aquél, la interpretación sintomática resulta sumamente complicada.

VALOR DIAGNÓSTICO DE LA HIPERTROFIA NEUROFIBRILAR

Las lesiones que acabamos de exponer se presentan con absoluta constancia en los centros nerviosos de los animales rábicos, desde el instante mismo en que se inician los trastornos motores, sensitivos y de la equilibración. Y aparecen lo mismo en el perro que en el conejo y en el cavia, únicos animales rábicos que hemos podido procurarnos para nuestras observaciones. Añadamos que, hasta ahora, la referida alteración del armazón celular nos ha faltado siempre en los conejos y perros muertos á consecuencia de mielitis traumáticas é infecciosas, en los atacados de la difteria y tétanos y en los envenenados por el fósforo, plomo y arsénico (experiencias recientemente efectuadas en conejos y perros). Por su parte, Marinesco tampoco ha conseguido ver dicha lesión, que estima de gran importancia para el diagnóstico histológico de la rabia, en el tétanos (1), en las intoxicaciones, hemiplegia y otras afecciones del sistema

(1) *Marinesco*: Lessions des neurofibrilles produites par la toxine tetanique. *Compt. rend. de la Société de Biol.* Séance 9 Juillet 1904.—Véase también: Nouvelles recherches sur les neurofibrilles. *Revue neurologique*, n° 15, Août 1904.

nervioso. En general, los autores que como Marchand (1) y Dagonet (2) han estudiado con el nuevo método las enfermedades nerviosas del hombre (tabes, parálisis progresiva, demencia, etc.) ó los efectos de las intoxicaciones é infecciones en los animales (difteria, tétanos, etc.), han observado palidez, atrofia y destrucción granulosa más ó menos acentuada del retículo, pero nunca el citado fenómeno hipertrófico.

Faltan aún no pocas enfermedades nerviosas de los animales por explorar, y es claro que toda conclusión definitiva acerca del valor diagnóstico de la lesión hipertrófica, peca hoy por hoy de prematura y está amenazada de rectificación. Séanos, empero, lícito afirmar que si, como esperamos, dicho signo falta en los procesos patológicos no analizados aún con el procedimiento del nitrato de plata, llegará á alcanzar una gran significación para la determinación de la hidrofobia en los casos dudosos, y competirá, si no sobrepujará, en fuerza expresiva, á las lesiones de Babés, de van Gehuchten y de Negri, lesiones que, dicho sea de paso (salvo la de Negri), son también visibles en nuestros preparados.

Las ventajas del nuevo signo diagnóstico son: hallarse en todos los centros nerviosos, y singularmente en los más atacados por el virus rábico; no faltar jamás en la hidrofobia (conejo, cavia, perro, etc.); no existir en los animales avegentados (el signo de van Gehuchten se da, á veces, en los perros decrépitos) (3), y en fin, constituir una lesión muy evidente y fácilmente revelable con cualquiera de las fórmulas de impregnación aconsejada por uno de nosotros. Y si bien es cierto que la hipertrofia neurofibrilar se encuentra de vez en cuando en las células nerviosas embrionarias (conejo y perro recién nacidos) (4), y según Babés, también en los animales muertos de anemia experimental, ni la disposición de los cordones celulares en estos casos es la misma que en las neuronas rábicas, ni los síntomas y antecedentes consienten la menor confusión; cuanto más que en los animales anemiados faltan las alteraciones flegmásicas de los centros nerviosos, absolutamente constantes en la hidrofobia, así como los signos de Babés y van Gehuchten, que son su consecuencia.

(1) *Marchand*: Lessions des neurofibrilles des cellules pyramidales dans quelques maladies mentales. *Comp. rend. de la Société de Biologie.* Séance 22 Octobre, n.° 28, 1904.

(2) *Dagonet*: La persistance des neurofibrilles dans la paralysse généralé. *Comp. rendu de la Société de Biol.* Séance n.° 28, 1804.

(3) Recientemente hemos hallado muy pronunciado el signo de v. Gehuchten en los ganglios raquídeos de un perro envenenado crónicamente con el arsénico. En estos mismos ganglios advertíanse también muchas células fenestradas, análogas á las señaladas por nosotros en la rabia.

(4) Sometidas á la acción del frío (véase el último trabajo de esta *Revista*).

Indicaciones técnicas. — Acabamos de decir que la lesión hipertrófica del retículo nervioso en la hidrofobia es fácilmente revelable con cualquiera de las fórmulas de impregnación aconsejadas por uno de nosotros (1). Todas ellas son capaces de mostrar, coloreadas de pardo obscuro, rojo ó negro, las neurofibrillas gigantescas; pero nosotros, después de haberlas aplicado muchas veces al caso actual, aconsejamos solamente estas dos.

Procedimiento rápido. — Cuando haya necesidad de formular lo más rápidamente posible un dictamen pericial y dispongamos del animal rabioso vivo, ó recién sacrificado, pero sin haber sufrido todavía la acción de ningún reactivo, el procedimiento preferido será el antiguo, llamado *primera fórmula*, á saber:

Piezas tres días induradas (en estufa de 28 á 40°) en nitrato de plata al 1'50 por 100 son, previo rápido lavado en agua destilada (algunos segundos), sumergidas durante veinticuatro horas en este líquido reductor.

Acido pirogálico	1 á 2 gramos.
Agua	90 cent. cúb.
Formol	10 —

Los trozos impregnados se lavarán un par de minutos en agua, se pondrán dos á seis horas en alcohol, y, sin celoidinar, es decir, con sólo fijarlos con escalpelo caliente sobre un bloque de parafina, se reducirán á cortes finos, entre los cuales se escogerán, no los superficiales y los profundos, sino los intermedios, de color marrón claro, pues en éstos es donde la reacción es más favorable al examen.

Por este procedimiento tíñense las neurofibrillas hipertróficas hasta en neuronas pequeñas, donde las otras fórmulas dan mal resultado; pero para alcanzar éxito seguro, deberemos sujetarnos á estas tres reglas:

1.ª Los trozos de tejido nervioso serán delgados (de 2 á 3 milímetros á lo más) y pocos en número (5 ó 6 solamente).

2.ª La cantidad de nitrato será grande, con relación á las piezas, por ejemplo, para 4 ó 6 trozos nerviosos se usarán 150 á 200 cent. cúb. de la solución argéntica.

3.ª Caso de tratarse del perro y resultar muy extensos los bloques nerviosos, se repartirán éstos en varios frascos y se aumentará todavía el tiempo de nitratación (uno ó dos días más).

Procedimiento con fijación alcohólica.—Cuando el apremio del tiempo no sea muy grande, debe preferirse todavía á la anterior la fórmula con fijación alcohólica previa, que lleva á la precedente las siguientes venta-

(1) *S. R. Cajal:* Un sencillo método de coloración del retículo, etc. *Trab. del Lab. de Inv. biol.*, fasc. 4.°, 1903.

jas: 1.ª, proporcionar un gran número de cortes útiles, casi todos los de la pieza, salvo los más superficiales, que se muestran harto impregnados; 2.ª, teñir simultáneamente, además del retículo celular, todos los axones medulados y no pocos amedulados, que destacan muy bien de café obscuro sobre fondo blanco ó ligeramente amarillento; 3.ª, presentar en muchas células enérgica y casi exclusivamente coloreadas las neurofibrillas hipertróficas; 4.ª, en fin, y esta es inapreciable, poderse aplicar á piezas que hayan permanecido muchos días en alcohol, según ocurre con las remitidas á los laboratorios antirrábicos desde poblaciones lejanas. Por nuestra parte, añadiremos solamente que la mayoría de las figuras anexas á este trabajo (nada esquemáticas por cierto) se han tomado de preparados previamente fijados en alcohol de 40° ó absoluto.

Aunque este proceder ha sido varias veces descrito por uno de nosotros, en obsequio de los que deseen servirse de él para el diagnóstico de la hidrofobia, recordaremos los momentos técnicos esenciales:

1.° Piezas que no pasen de 3 milímetros de espesor se sumergen por veinticuatro horas en alcohol absoluto ó de 40° (Cartier). Para trozos más pequeños podría rebajarse aún el tiempo á doce horas. El máximo lo ignoramos; diremos tan sólo que hemos logrado éxito completo trabajando con piezas que habían permanecido dos, cuatro, ocho, diez y hasta veinticinco días en alcohol de 40°. Los pedazos gruesos, por ejemplo, de cerca de 1 centímetro de espesor, no son muy favorables, pero á pesar de ello, las partes centrales, tardía y malamente fijadas por el alcohol, han revelado con suficiente claridad la lesión hipertrófica en la médula, bulbo y cerebelo del perro hidrófobo.

2.° Sin lavarlas, es decir, escurriéndolas únicamente algunos segundos sobre un papel secante, se llevan á la solución de nitrato de plata al 1'50 por 100. En este líquido, que debe ser abundante con relación á las piezas y mantenerse de 28 á 40° en estufa, permanecerán de cuatro á seis días.

3.° Lavadas unos segundos en agua destilada (cámbiese una vez), se sumergen por veinticuatro horas en este reductor:

Hidroquinona (ó ácido pirogálico)	1
Formol	10
Agua destilada	90

4.° Alcohol absoluto, inclusión en celoidina y cortes moderadamente finos, que se conservarán como de ordinario.

Si hay urgencia, no es preciso esperar á la celoidinación para cortar, toda vez que las piezas, al salir del reductor, ofrecen una consistencia suficiente. Convendrá de todos modos, antes de efectuar las operaciones microtómicas, guardar los trozos nerviosos una hora en alcohol y montar-

los superficialmente, de la manera indicada, en bloque de parafina. Si los cortes salen arrugados, recójanse en agua, en la que se distenderán instantáneamente; luego llévense al alcohol, esencia de orégano, etc.

Excusado es decir que también á este proceder atañen los consejos antes expuestos sobre desproporción entre la cantidad de nitrato de plata y el número de las piezas, así como sobre el espesor de éstas.

Dejamos consignado ya que la alteración hipertrófica se observa en todos los centros nerviosos. Sin embargo, nosotros aconsejaríamos á los que deseen aprovechar el método como recurso diagnóstico, que se sirvan, de preferencia, de estos tres centros: médula espinal, bulbo raquídeo y ganglios centrales del cerebelo (techo y oliva). Si se trata del perro, también serán preferidos estos centros, añadiéndose todavía el plexo ganglíforme del vago, donde se encuentran bellísimas hipertrofias del retículo. En los demás centros, las lesiones características se muestran igualmente, pero, no siendo tan vistosas y notables, exigen de parte del observador conocimientos histológicos previos, que no siempre concurren en los peritos encargados de estos análisis en los Institutos antirrábicos.

INSTITUTO DE ALFONSO XIII

SECCIÓN DE SUEROTERAPIA

NUEVO PROCEDIMIENTO DE ATENUACIÓN

Y NUEVA VACUNA ANTI-CARBUNCOSA

POR

F. MURILLO

Jefe de dicha Sección

Antigua, casi tan antigua como la misma doctrina parasitaria, es la idea de utilizar en la lucha contra las bacterias patógenas otras especies desprovistas de propiedades dañinas para el hombre ó capaces de provocar, cuando más, alteraciones transitorias de escasa entidad. El supuesto teórico se reduce á imaginar que, existiendo como existen en el mundo exterior bacterias de vida incompatible entre sí, no ha de ser empresa difícil encontrar especies que reunan á la condición de *inofensivas* para el hombre, la cualidad de *ofensivas* para las bacterias patógenas, de donde resultaría que, inoculadas aquéllas en los parénquimas atacados por éstas y entablada la lucha por la existencia, si llegaban á vencer, el palenque, el terreno quedaría libre de enemigos y, por tanto, curada la enfermedad.

Esta idea, seductora en su sencillez y fácilmente admisible con sólo pensar por analogía en las afinidades y antagonismos que tanto abundan entre los seres vivos, no ha obtenido la sanción de la práctica, hasta el punto que todos los ensayos de bacterioterapia realizados por diversos autores, constituyen otros tantos fracasos confirmados, otras tantas evidentes decepciones. Desde el *bacterium thermo* aplicado al tratamiento de la tuberculosis, hasta el *streptococcus* de *Fehleisen*, aplicado á la cura del cáncer, todas las tentativas imaginadas han resultado infructuosas, todas las combinaciones estériles.

Y, sin embargo, yo tengo arraigada la convicción de que ahí existe un camino que conduce á la verdad. Mas, para recorrer el camino y llegar

á la verdad, es necesario plantear el problema en otros términos, abandonando la rudimentaria y, en cierto modo, grosera concepción de un combate *fiero* y *personal* entre una bacteria determinada y otra que le sea mortalmente enemiga. Implantar en el territorio invadido por un microbio otro que le sea antitético encomendándole el doble papel de agente curativo de la enfermedad y campeón vengador del organismo atacado, es un colmo de ideal simplicismo, poco conforme con los hábitos de la naturaleza, que si aparece sencilla en sus procedimientos, es después que el ingenio humano descifra y aclara la intrincada y siempre armónica complejidad de sus secretos.

No hay, pues, combate singular entre adversarios; no hay *corps á corps* entre rivales que se disputan el predominio en el banquete de la vida; pero con todo y con eso, *las bacterias no escapan ni pueden escapar á la ley biológica universal que asigna á cada especie sus enemigos y sus aliados*. Esta ley que interpretada á la letra no ha dado hasta ahora ningún fruto, podrá darlos, los dará sin duda el día que la observación nos revele cómo la vida de unas bacterias influye sobre la vida de otras, y cómo la naturaleza, sin acudir á la lucha directa y material, utiliza las funciones de un sér en favor ó en contra de otros ó á la par, en provecho de un segundo y en perjuicio de un tercero.

Y ya en este terreno algo podemos intentar, porque si bien el caudal de conocimientos relativos á la materia peca de escaso é inseguro, sabemos lo bastante para entrever y seguir orientaciones determinadas, aproximándonos en el artificio del laboratorio al secreto mecanismo de las influencias unilaterales, bilaterales y recíprocas de los diversos seres y, particularmente, de los comprendidos en la flora parasitaria. En efecto: el estudio general de los vegetales microscópicos ha descubierto, por lo pronto, algunos antagonismos entre determinadas especies y numerosas asociaciones de convivencia llamadas *symbiosis*. Es, pues, un fenómeno natural, confirmado por numerosos observadores, que hay bacterias que se repelen y bacterias que se juntan para favorecerse mutuamente. Pero fuera de estos antagonismos y estas asociaciones, sucede también que la vida de muchas bacterias se halla estrechamente relacionada con la vida de otras, relación que se manifiesta de la manera más frecuente y ostensible en la sucesiva aparición de especies distintas dentro del mismo medio; y como las especies que turnan son siempre las mismas y en el mismo orden, procede admitir que unas, las primeras, preparan el medio para el crecimiento de las subsiguientes, de modo que no es posible el desarrollo de cualquiera de ellas sin el previo desarrollo de las anteriores. La destrucción de la materia orgánica en sus ciclos aerobio y anaerobio; la fermentación del mosto en sus fases etílica y acética; la producción del

queso con sus tres etapas cronológicas desenvueltas por tres microorganismos distintos, y otros mil ejemplos que se podrían citar, demuestran el aserto anterior y enseñan que, aun prescindiendo de las *symbiosis*, en el mundo de las bacterias hay, entre muchas de ellas, un engranaje evolutivo constante, un eslabonamiento de vidas y de funciones, un orden de sucesivas florescencias nacidas unas sobre los despojos de las otras y que, indudablemente, obedecen todas á la misma causa general.

¿Qué causa puede ser ésta?

Partiendo del hecho fundamental de que cada planta exige para su crecimiento una composición particular del medio, y recordando que el crecimiento es tanto mejor cuanto más adecuado resulta el *substractum* nutritivo, claro es que en las variaciones de éste debemos buscar y fundamentar la causa de los antagonismos, la causa de las *symbiosis* y la causa, en fin, de la rotación ó evolución escalonada de las diversas especies dentro del mismo medio. Pues bien, prescindiendo de las condiciones físicas y de toda intervención artificial, los fito-parásitos pueden variar el medio que los sustenta únicamente por simple alteración de su constitución química, y esta alteración se verifica de dos maneras: 1.ª, alguna rara vez por síntesis, y casi siempre por descomposiciones y desdoblamientos que dichos agentes provocan en el substratum durante el ejercicio de su actividad nutritiva; y 2.ª, por virtud de la adición de productos elaborados por los mismos fito-parásitos, y que si bien son perjudiciales para las especies que los elaboran, *pueden ser beneficiosos ó pueden influir de alguna manera sobre otras especies.*

Este pensamiento es el que me ha llevado á intentar el cultivo de algunas bacterias en medios donde por espacio de un tiempo prudencial había hecho vegetar otras bacterias, aferrado á la hipotética creencia de que unas veces las toxinas y otras las proteínas (bacteriolisis) contenidas en los caldos usados, llegarían á ejercer acción manifiesta sobre las nuevas siembras.

Juzgando por analogía basta recordar, en abono de esta idea, los ejemplos y los precedentes que la botánica señala en copiosa abundancia. Desde las plantas que para su crecimiento necesitan la sombra de otras plantas, hasta los hongos, que se nutren de materias y jugos vegetales; desde las *symbiosis* macroscópicas ó de observación directa, hasta la admirable alianza de las leguminosas con el *bacillus radicicola*, es enorme la escala de enlaces biológicos que se traducen ya en una asociación amistosa y mútuamente favorable, ya, sobre todo, en un parasitismo descarado y fatal. Además, en términos generales, las plantas viven de los detritus y de las cenizas de otras plantas, y es de observación vulgar la preferencia de unas por los resíduos de otras, preferencia que se mani-

fiesta en la riqueza y lozanía de los cultivos, y que en la antigua agricultura empírica dió lugar, por lo menos en parte, al llamado sistema de rotación de cosechas. Y puesto que las leyes biológicas, múltiples en su variedad, son únicas en su esencia, tengo por verosímil que algo de esto acontece ó debe acontecer en el reino de las bacterias.

*
* *

Es cosa averiguada por ensayos y probaturas que á diario se intentan en todos los laboratorios, que en general los caldos agotados por el cultivo de un microorganismo no sirven, son impropios para el cultivo de otras especies. Hay, sí, bacterias que crecen en medios habitados por otras bacterias ó en caldos que han servido para obtener cultivos de otras especies, pero fuera de tal ó cual excepción, las cosechas así logradas suelen ser miserables, y las nuevas generaciones mueren pronto ó pierden sus propiedades típicas. Me había yo propuesto averiguar la influencia que los productos elaborados por algunas bacterias ejercen sobre otros microorganismos, estudiando las variaciones morfológicas y biológicas que indudablemente deben resultar de dicha acción, caso de realizarse. Para este estudio hube de elegir la toxina diftérica como tipo definido y perfectamente manejable de los venenos bacterianos, y el *bacillus anthracis* como tipo también de microbio patógeno, vigoroso, tenaz, poco exigente y de muy conocida historia.

Sin sorpresa, pues, pero con alguna curiosidad, observé que el *bacillus anthracis* transportado del caldo común á un tubo de toxina diftérica crecía en abundantes copos, si bien al principio con lentitud mayor que la ordinaria. La prosecución de estos cultivos en condiciones variadas tuvo por término el resultado que ahora me limito á consignar, dejando para ocasiones venideras la descripción detallada de la técnica y el planteamiento de los numerosos problemas que uno tras otro surgen de improviso apenas esbozadas las primeras líneas en este nuevo campo de investigación.

*
* *

Los resultados que he llegado á obtener con el cultivo del *bacillus anthracis* en toxina diftérica se agrupan en dos órdenes de hechos: 1.°, variaciones morfológicas; 2.°, atenuación de la virulencia á voluntad, en el grado requerido y con caracteres de constante fijeza.

1.° *Variaciones morfológicas.* — A pesar de que el aspecto macroscópico de los cultivos es perfectamente normal, sin más alteración, si acaso, que la abundancia del crecimiento, la raza que he logrado obtener, ofre-

ce, sin embargo, los caracteres asignados á la degeneración. Comparando el crecimiento en caldo común y en toxina, se observa casi siempre á los

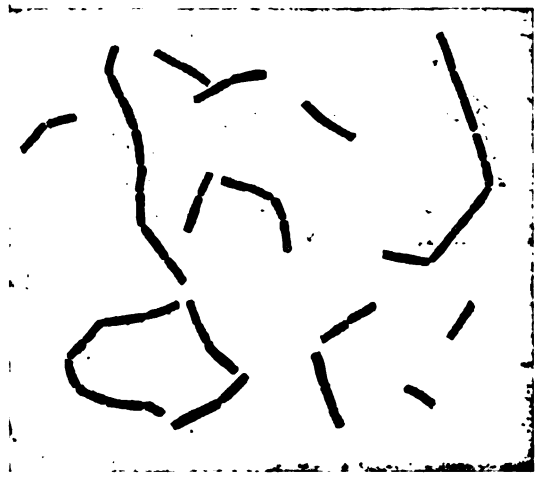


Fig. 1. — *B. anthracis* normal. Cultivo en caldo de 5 × 24 h.

cuatro, seis y ocho días que los dos tubos permanecen transparentes, pero la sedimentación, el poso, es mayor, bastante mayor en el tubo de toxina

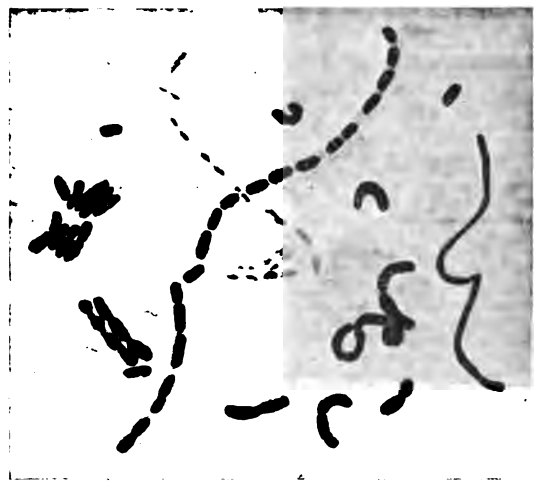


Fig. 2. — *B. anthracis* degenerado. Cultivo de 5 × 24 h. en *Tox. diftérico.*

que en el de caldo. Y no deja de ser extraño, y al parecer contradictorio, que un bacilo degenerado se desarrolle más y mejor en un medio

impropio que en un medio normal. Que la variación morfológica sea ó no degenerativa (1), constituye un hecho, no cabe dudarlo.

Siempre y sin excepción se obtienen preparaciones iguales ó muy semejantes á la que ha servido para dibujar la figura 2. En primer lugar, la tinción no es uniforme: unos bacilos aparecen pálidos, otros coloreados en parte, y en parte sin color, otros excesivamente impregnados, y otros, por fin, tienen un extremo ó los dos claros y el centro muy teñido ó viceversa. En segundo lugar, la forma: tiene el *b. anthracis*, á más de su tamaño, rasgos tan acusados y perfil tan característico, que por ligeras que sean sus alteraciones no pueden pasar inadvertidas. En los nuevos cultivos, unos bacilos adquieren forma de maza ó aporrada, otros se hacen completamente piriformes, otros se alargan y se incurvan de distintas maneras, y otros se prolongan en hilos largos, ya rectos, ya curvos, á trechos finos y á trechos recios, y algunos con señales de sufrir una verdadera plasmolisis. La degeneración predominante, la que más abunda es el bacilo corto, recio y más ó menos incurvado; y cuando estos bacilos constituyen cadenas, se ve que los espacios interbacilares son algo mayores que en las normales, y los extremos de cada uno, en vez de tener el corte recto señalado ya por Koch en sus primeros estudios, lo tienen ligeramente convexo. Por último, debo mencionar como carácter especial, el comportamiento de la cápsula, la cual se halla en algunos bacilos muy separada del protoplasma ó completamente vacía. Este carácter, si en sucesivas y repetidas observaciones lo confirmo, me servirá de base para fundamentar ó explicar otro hecho primordial.

No es mi ánimo detallar aquí todas y cada una de las particularidades morfológicas que ofrece el *b. anthracis* en los diferentes cultivos de toxina diftérica á que lo he sometido, pero sí deseo hacer constar dos hechos: 1.°, que no pierde la facultad de esporular ni aun siquiera la de producir sus peculiares corpúsculos cromáticos (Ernst-Babés, etc.); y 2.°, que así como en los cultivos normales hay frecuentemente algún bacilo, y aun algunos, que presentan signos de degeneración, también en los cultivos obtenidos por este procedimiento, junto á la masa de los degenerados, se observan bastantes al parecer sanos y normales.

2.° *Atenuación de la virulencia.*—La variación biológica en el sentido de la atenuación es clara, terminante, visible y ponderable, y unida á la

(1) Parece, en mi sentir, discutible que las variaciones morfológicas á que hago referencia sean todas de carácter degenerativo morboso, y en definitiva, mortal. Sin duda aquí, como en los demás fenómenos naturales, existen gradaciones, y no siempre la pérdida de unos caracteres y la adquisición de otros significa una degeneración. Bueno es hacer constar, por lo pronto, que mi *b. anthracis toma y conserva* perfectamente el Gram, mientras que, según afirman los autores, el degenerado en los cultivos ordinarios *no conserva* el Gram y se tiñe por el segundo color.

variación morfológica, complementa é integra los caracteres distintivos de una nueva raza. El *b. anthracis*, de donde procede y que es el que en el Laboratorio nos sirve para diferentes usos, fué aislado por mí de una oveja muerta de carbunco ó bacera en un pueblo de las cercanías de esta corte. No hemos determinado la *dosis mínima mortal* de cultivo para cada especie, pero sí es seguro que su virulencia actual en los múltiples ensayos que con frecuencia verificamos, no baja nunca de la proporción siguiente:

Cultivos de 2 á 4 días en caldo común, matan ..	Cobayas de 400 gramos con $^1/_{50}$ de cmc. en 36 horas Conejos de 1000 gramos con $^1/_{10}$ de cmc. en 3 días. Ovejas medianas con $^1/_8$ de cmc. en 3 á 4 días.

Pues bien, dejando aparte ahora, porque merece capítulo especial, la inmunización de cobayas, consignaré mis experiencias en conejos comunes y en el ganado lanar.

Conejos. — Son muchos los que llevo inyectados en inyección hipodérmica con *medio centímetro cúbico* de cultivo degenerado en toxina (que desde ahora, para evitar perífrasis, llamaré vacuna T) y del diario de observación resulta que á las veinticuatro horas se advierte hiperemia cutánea, y todo lo más, ligerísimo edema, formándose más tarde en el punto de la inyección un engrosamiento pequeño, que luego se endurece y reduce de tamaño para quedar á los ocho días, por toda señal, un nodulito como una lenteja. Cuando en vez de medio cent. cúb. inyecto doble, aparece cierto grado de edema difuso, el cual dura por término medio tres días y poco á poco se desvanece, dejando un nódulo algo mayor que el mencionado anteriormente. Forzando algo más la dosis, he llegado á producir escaras pequeñas, que al cabo de los días se eliminan sin alterar el estado general. La virtud inmunizante de estos cultivos es admirable; como prueba citaré la siguiente experiencia:

Conejo común de 1400 gramos. — El 25-VII (de 1904) recibe medio cént. cúb. de vacuna T. El 5-VIII se le inyecta $^3/_8$ de cultivo normal virulento y á un testigo de igual peso $^1/_{10}$ del mismo cultivo. El testigo muere á los cuatro días. El vacunado no sufre reacción local ni general. El 26-VIII recibe $^4/_8$ de cultivo virulento. El 9-IX $^6/_8$; el 26-IX 1 cént. cúb.; el 7-X 1 cént. cúb. de cultivo también virulento recién aislado de una oveja muerta de bacera; el 14-X 2 cént. cúb.; el 24-X 5 cént. cúb.; el 3-XI 10 cént. cúb.; y el 3-XII 20 cént. cúb. A consecuencia de esta última inyección se formó *in situ* una infiltración grande circunscrita, que poco á poco fué reduciéndose en términos que, hoy «25 de diciembre», el conejo, vivo y sano, ofrece de anormal nada más que un nódulo grueso y duro.

Ovejas.—Lo primero que he procurado averiguar es si la inyección de la vacuna T provocaba perturbaciones de algún género en ovejas, carneros y corderos. Puedo afirmar terminantemente que no ocasionan reacción general y sí sólo una reacción local, que se traduce por infiltración pequeña circunscrita que, en el transcurso de seis ó siete días, queda reducida, poco más ó menos, al tamaño de un guisante. La infiltración no es dolorosa y los animales no cojean ni pierden el apetito. He variado muchísimo las pruebas en el Laboratorio, pero como más aproximada á la realidad, me limito á citar aquí una verificada en el campo.

Por intermedio de mi querido amigo el médico de Humanes, de Madrid, D. Manuel Chapado, otro médico y agricultor de la vecindad, D. José Rico, puso á mi disposición en dicho pueblo 2 corderos de diez meses, 2 ovejas de dos años, 2 de tres y 2 hermosos carneros. A éstos y á las 4 ovejas inyecté $^1/_2$ cént. cúb. de mi vacuna y á los corderos $^1/_4$ de centímetro cúbico. Ninguno de ellos experimentó más novedad que la formación del correspondiente nódulo.

La inmunidad que dichas inyecciones producen en el conejo se muestra igualmente eficaz en el ganado lanar. Claro que para conseguirla me he visto precisado á verificar tanteos y variaciones hasta lograr un cultivo tipo que, á mi entender, satisface plenamente las necesidades de la práctica.

En prueba de ello, véase el resultado de las tres series de inoculaciones que á continuación transcribo:

1.ª serie	2.ª serie	3.ª serie
DÍA 19-X-1904	DÍA 5-XI-1904	DÍA 26-XI-1904
Se inyectan con vacuna T.	Se inyectan con vacuna T.	Se inyectan con vacuna T.
Cobaya de 400 grs. $^1/_8$ cmc + á las 74 horas.	Conejo de 1860 grs., $^1/_2$ cmc.; rubicundez y nódulo.	7 ovejas de tamaño mediano y pocas carnes (peso unos 37 kilos) con $^4/_8$ cada una.
Conejo de 1800 grs., $^4/_8$ cmc.; sin novedad.	Oveja C flaca, $^1/_2$ cmc.; nódulo regular.	El 7 XII. reciben 5 de las vacunadas $^2/_8$ de cultivo normal y las otras 2, á más de $^1/_8$ del mismo cultivo, esporos abundantes por ingestión. A una oveja testigo se le inocula $^1/_8$. Las vacunadas no sufren trastorno apreciable, pero tampoco la testigo ofrece síntomas de infección.
Oveja A mediana. $^4/_8$ cmc; nódulo pequeño	Oveja D flaca, $^1/_2$ cmc.; nódulo regular.	
Oveja B mediana, 1 cmc.; rubicundez y ligero edema.	El 21 XI, reciben el conejo y la oveja C $^2/_8$ de cultivo virulento; la oveja D y otra testigo $^1/_8$. Esta muere á las 62 horas. Las vacunadas y el conejo no acusan trastorno general, y en cuanto á la reacción local, se manifiesta por un nódulo pequeño	
El 28 X, se les inocula al conejo y á la oveja B $^2/_8$ de cultivo virulento; á la oveja A y á otra testigo $^1/_8$. La testigo muere á las 72 horas, y tanto la autopsia como el examen microscópico revelan la presencia del bacillus anthracis.		
El conejo y las ovejas vacunadas no experimentan ninguna novedad.		

Tengo actualmente planteadas varias pruebas que me han de servir para esclarecer puntos dudosos, sobre todo el relativo á la dosis exacta necesaria para conferir una sólida inmunidad, libre de peligros, tanto en el ganado lanar, como en el vacuno y en el cabrío. Sin embargo, esto ha de ser objeto de sucesivos trabajos: en el de hoy me había propuesto únicamente demostrar la positiva atenuación del *b. antrhacis* por la toxina diftérica y las consecuencias prácticas que de tal hecho se desprenden, sin divagar por el momento ideando nuevas generalizaciones para otras enfermedades.

Por último, cumplo un agradable deber tributando público testimonio de agradecimiento á los profesores veterinarios del Instituto Sres. García Izcara, Colomo é Hidalgo, por su material cooperación en los trabajos que acabo de extractar, y al auxiliar de la Sección, Dr. Tello, por los dibujos que acompañan al texto.

Madrid 30 Diciembre 1904.

NEUROGLIA Y NEUROFIBRILLAS DEL LUMBRICUS

POR

S. R. CAJAL

Por una singularidad de la química de los órganos nerviosos del *Lumbricus*, el método del nitrato de plata reducido, que tan bellos resultados suministra en el *Hirudo*, no colorea jamás ni poco ni mucho las neurofibrillas de aquel animal. La fórmula primera (fijación directa en nitrato de plata del 3 al 6 por 100, tres días en estufa) impregna exclusivamente los conductos intraprotoplásmicos de Holmgren, que aparecen, según dejamos consignado en otro trabajo, en todas las células nerviosas, epiteliales y glandulares.

En cambio, lógrase una bella coloración de la neuroglia, utilizando la fórmula cuarta, es decir, la impregnación argéntica, previa fijación en formol solo, ó con formol amoníacal. He aquí el *modus operandi*:

1.° Trozos de lombriz de tierra, sumérgense por veinticuatro horas (en frío) en esta solución:

Agua destilada	40 cent. cúb.
Formol	10 —
Amoníaco	4 á 6 gotas.

2.° Lávanse las piezas por algunas horas en agua destilada para extraer el formol.

3.° Después de lo cual se llevan al nitrato de plata al 3 por 100, en donde permanecerán (en estufa á 30 ó 35°) de cuatro á cinco días.

4.° Reducción en la solución de ácido pirogálico formólico, etc.

Al examinar los cortes hallamos, además de una bella coloración selectiva en café obscuro de las fibras neuróglicas de los ganglios, una cantidad notable de fibrillas finas, homogéneas, reticuladas, esparcidas por casi todos los tejidos del animal. Por ejemplo, vénse hermosas redes debajo de la piel, en las células epiteliales de las nefridias, en torno de las fibras musculares, etc. Todas estas hebras son libres y semejan á las fibras

conectivas de los vertebrados. La reacción es absolutamente constante.

Si las piezas, una vez extraídas del ácido pirogálico (fórmula con fijación formolico-amoníacal) se dejan en alcohol de seis á veinticuatro horas, y se trasladan después á una solución al 1 por 500 de cloruro de oro neutro, donde permanecen dos días, se obtiene una impregnación violeta de las neurofibrillas de las neuronas gangliónicas.

Esta reacción, según dejamos dicho en otro trabajo, resulta de la precipitación del oro por el resto del ácido pirogálico no extraído de las piezas por el alcohol. Desgraciadamente, como todos los métodos de coloración neurofibrilar por el oro (como el de Apathy, por ejemplo), este procedimiento es algo inconstante. Hasta hoy, las pocas veces en que hemos conseguido coloraciones bien selectivas (véanse las figs. 3 y 4), tratábase siempre de lombrices pequeñas ó jóvenes. Nos proponemos, sin embargo, estudiar á fondo las causas de esta inconstancia y fijar en ulterior trabajo las condiciones indispensables del éxito.

Previas estas indicaciones técnicas, pasemos á describir sumariamente los resultados obtenidos.

Neuroglia ganglionar del Lumbricus.—Las indicaciones dadas por los autores acerca de la neuroglia de los vermes, son tan vagas y contradictorias, que no permiten formar una idea precisa del armazón conjuntivo de la cadena gangliónica. Es innegable, además, que se han tomado á menudo por *Gliazellen* ó corpúsculos semejantes á los de Deiters de los vertebrados, elementos de naturaleza nerviosa. Tal ha debido ocurrirle á Röhde (1) con las células estrelladas neuróglicas que describe en el *Aulastomum*, y á Apathy (2), cuando considera á los corpúsculos de Leydig susceptibles de formar hebras neuróglicas, y estima cual legítimas células de Deiters ciertos corpúsculos estrellados intercalados á las neuronas del *Hirudo*.

En realidad, durante nuestras pesquisas bibliográficas sobre el argumento, sólo hemos hallado dos datos que positivamente se refieran al armazón conjuntivo de los centros nerviosos de los vermes. Son éstos: las finas trabéculas intercalares, que Apathy menciona y dibuja entre las fibras longitudinales de la cadena ganglionar del *Alaustoma* (*Gliabalken*, de este autor), y una especie de célula impregnada eventualmente por Retzius (método de Golgi) y figurada en la línea media de la región ventral de los ganglios del *Lumbricus*. Semejante pseudo-célula, de cuya significación duda el sabio de Stockolmo, no es otra cosa, en nuestro sentir,

(1) *Röhde*: Histologische Untersuchungen über das Nervensystems der Hirudineer. *Zool. Beitv. v. Ascheneider fortges, v. E. Röhde*, 3, Bd. H. 1, 1890.

(2) *Apathy*: Das leitende Element des Nervensystems, &. *Mittheilung. aus der zool. Station zu Neapel*, 12 Band. IV Heft., 1897.

que un fragmento de la trama conectiva gangliónica, accidentalmente coloreado por el cromato de plata (1).

Declaremos desde luego que, en nuestros preparados, no se ven células neuróglicas, sino un armazón fibrilar, que arranca de la cubierta conjuntiva de los ganglios y engendra, entre las células y paquetes fibrilares nerviosos, una red sumamente compleja y semejante en el fondo á la que se observa en otros tejidos.

En la fig. 1 presentamos un corte transversal de un ganglio, cuya trama conectiva ha sido coloreada por la fórmula más atrás descrita. Adviértase que casi todas las fibras neuróglicas residen en dos regiones: la región de los cuerpos de las neuronas y la vecindad del rafe.

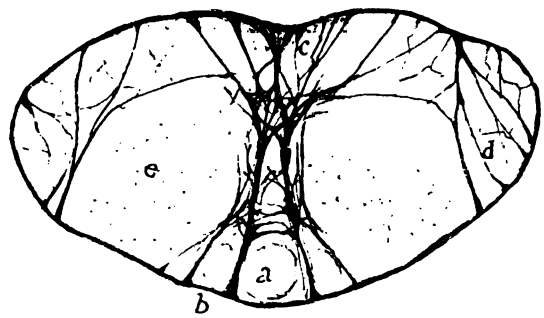


Fig. 1. — Corte transversal de la cadena ganglionar del *Lumbricus*. — *a*, tubos colosales; *b*, columnas neuróglicas; *c*, plexo neuróglico ventral; *d*, plexos laterales; *e*, zonas pobres en neuroglia.

En la región del rafe, muéstranse comunmente en cada corte cuatro columnas fibrosas que van desde la cara dorsal á la ventral, pero sin conservar su independencia, antes bien ramificándose y anastomosándose muchas veces. Comienzan dichas columnas entre las tres fibras nerviosas colosales (*b*) mediante espesamientos cónicos continuados con la cubierta gangliónica; marchan oblícuamente á seguida hacia el centro gangliónico, donde se aproximan y anastomosan recíprocamente y de modo muy complicado; prosiguen después hacia la región ventral, y, en la vecindad de las células nerviosas, se descomponen en una infinidad de cordones radiados, frecuentemente anastomóticos, los cuales pasan á continuarse con distintos parajes de la cápsula conjuntiva dorsal (*c*). De ordinario, existe una recia columna media, acabada mediante ensanchamiento triangular considerable, en el surco ventral ó subvascular.

(1) *G. Retzius*: Das Nervensystems der Lumbricinen. *Biol. Untersu.* Neue Folge. Bd. III, 1892. (Véase Taf. V, fig. 3, *bg*, del trabajo de este sabio).

La región celular está enteramente recorrida por trabéculas conjuntivas, cuya disposición aparece bien en la fig. 1, *c*, *d*. Repárese que el territorio próximo al rafe es servido por las radiaciones de las cuatro columnas centrales, mientras que los más laterales lo son por haces conectivos nacidos también, por ensanchamientos cónicos, de la cápsula conectiva inmediata. Entre el armazón central ó próximo al rafe y el lateral, adviértense trabéculas anastomóticas en arco.

La fig. 2, que representa un corte longitudinal próximo al rafe de la cadena gangliónica del *Lumbricus*, revela mejor toda la complicación de las citadas columnas neuróglicas, dejando ver los tres departamentos ó huecos principales que sus expansiones reservan : 1.°, el hueco inferior

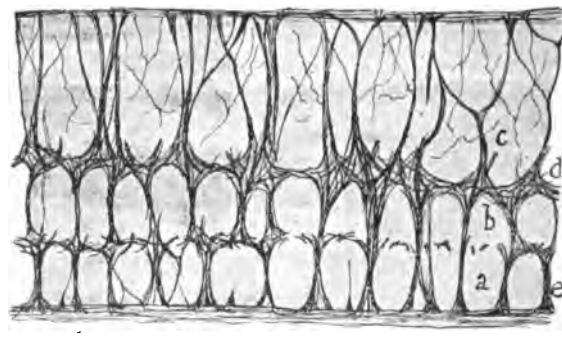


Fig. 2. — Sección longitudinal de la cadena gangliónica del *Lumbricus*. El corte pasa cerca del rafe. — *a*, compartimentos para los tubos colosales; *b*, para las fibras comisurales; *c*, para las neuronas; *d*, quiasmas neuróglicos.

ó dorsal (*a*) donde se alojan los tubos colosales ; 2.°, el espacio medio, comprensivo principalmente de las fibras nerviosas transversales ó comisurales (*b*), y el dorsal, de amplias lagunas, donde se alojan las neuronas (*c*). Repárense las anastomosis que juntan en sentido longitudinal las susodichas columnas, y los complicados quiasmas fibrilares emplazados entre el departamento neuronal y el medio ó comisural.

Analizados cuidadosamente con un objetivo potente estos quiasmas, así como todas las anastomosis, se viene luego en conocimiento de que, en realidad, al nivel de tales puntos de concurrencia no existe continuidad substancial, sino cambio de fibrillas, es decir, verdaderos plexos complicados, en un todo comparables á los de la trama conectiva ordinaria de los vertebrados. Cada fibra, pues, de las visibles con flojos aumentos representa un haz de hebras finísimas, las cuales, depués de desprenderse, se juntan con las de otros manojos, generando, por tanto, esos quiasmas complicados de que la fig. 2, *d*, no da sino incompleta idea. Entre las

fibrillas de cada manojo y entre los hacecillos de los quiasmas obsérvase una substancia unitiva ó intersticial, amorfa y más débilmente coloreable por la plata que las fibras neuróglicas.

En fin, entre los cuerpos de las neuronas mismas se hallan fibras aisladas, finísimas y apenas tingibles, que sólo aparecen en las más enérgicas impregnaciones.

¿De dónde vienen las fibras neuróglicas que acabamos de exponer? Cuando se las persigue cuidadosamente al nivel de la cubierta ó forro ganglionico, se las ve palidecer, tornarse finamente granulosas y continuarse con la membrana conectiva exterior, especie de neurilema del ganglio. Ese aspecto granuloso se inicia ya en el cono de origen, de ordinario menos coloreado que las columnas fibrilares intragangliónicas. A veces, no obstante, nótase dentro del cono una parte más impregnada que se continúa con la trama exterior.

Los referidos ensanchamientos periféricos de las fibras y manojos conectivos intragangliónicos ¿tienen representación de cuerpos celulares? Hasta ahora cuantos esfuerzos hemos hecho por reconocer en dichas partes, así como en los quiasmas intragangliónicos, un núcleo, han resultado fallidos. A nuestro juicio, pues, la neuroglia del *Lumbricus* viene á ser mera continuación de la trama conectiva exterior gangliónica, es decir, de la fina cubierta fibrilar situada entre la masa nerviosa y la zona de fibras musculares inmediatas, y tiene, por consiguiente, la representación de una materia intercelular, por lo menos en el estado adulto, á semejanza de la trama colágena del tejido conectivo de los vertebrados. De todos modos reclama este punto todavía nuevas investigaciones.

En el punto de origen de los nervios, la cubierta conectiva perigangliónica se continúa con el neurilema de éstos, compuesto á su vez de multitud de hacecillos y fibras, dispuestos en plexo membranoso. El nitrato de plata colorea siempre estos haces menos intensamente que los intragangliónicos. Añadamos que una disposición semejante de la neuroglia hemos hallado también en los ganglios y nervios de la sanguijuela. Tampoco en este animal se descubre otra cosa que hacecillos y hebras neuróglicas intersticiales.

Células nerviosas. — Respecto á la morfología de las neuronas, hemos confirmado simplemente los datos aportados hace ya tiempo por Lenhossék (1), Retzius (2), y en estos últimos años por Apathy (3) y

(1) *M. v. Lenhossék:* Ursprung. Verlauf und Endigung der sensibeln Nervenfasern bei Lumbricus. *Arch. f. mikros. Anat.* Bd. 39, 1892.

(2) *G. Retzius: Loc. cit.* y *Biol. Unters.* Bd. II, 1891.

(3) *Apathy: Loc. cit.*

Havet (1). En nuestros preparados del cloruro de oro, la mayoría de las células afectan figura monopolar, pero abundan también los elementos con dos, tres y más expansiones. Posible es, como afirma Apathy, que todas las células del *Lumbricus* posean más de una prolongación (aun las francamente piriformes), es decir, un axon y una ó varias dendritas, á semejanza de los vertebrados; sin embargo, en las células pequeñas más laterales del ganglio no hemos podido reconocer más que la prolongación principal. Esta prolongación, llegada á la región central del ganglio, se divide y sus ramas marchan unas á la *Puncksubstanz* de Leydig y otras

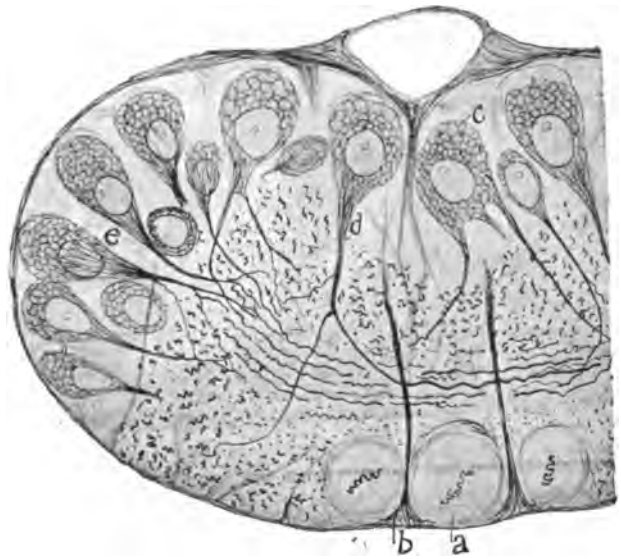


Fig. 3.—Sección frontal de un ganglio del *Lumbricus*. Impregnación por el cloruro de oro. — *a*, tubo colosal; *b*, columna neuróglica; *c*, corpúsculo multipolar; *d*, célula comisural; *e*, elementos monopolares.

á constituir axones radiculares directos y cruzados. En algunos elementos la rama principal genera, según es bien sabido, un axon longitudinal ó conectivo.

Lo más interesante de nuestros preparados concierne al retículo de neurofibrillas. Según se aprecia en las figuras 3 y 4, estas hebras engendran una red tupida de mallas poligonales que llena todo el protoplasma, sin dejar esos grandes espacios libres que se ven en las neuronas del *Hirudo*. Del lado de la expansión, los hilos se adelgazan y palidecen algo, las mallas se alargan, y, convergiendo las unas en las otras, arriban

(1) *J. Havet*: Structure du système nerveux des annélides, &. *La Cellule*, tomo XXVII, fasc. 1, 1899.

al pedículo ó región intranuclear, donde concurren, finalmente, en un solo cordón relativamente espeso, dentro del cual no es posible discernir señal de hebras integrantes. Parece, pues, éste un cilindro macizo y no un fascículo de neurofibrillas, aspecto que no sabemos si corresponde á una disposición real ó si depende de la insuficiencia resolutiva de nuestros objetivos.

La disposición general del retículo intraprotoplásmico de nuestros preparados confirma en lo esencial la descripción de Apathy y la más re-

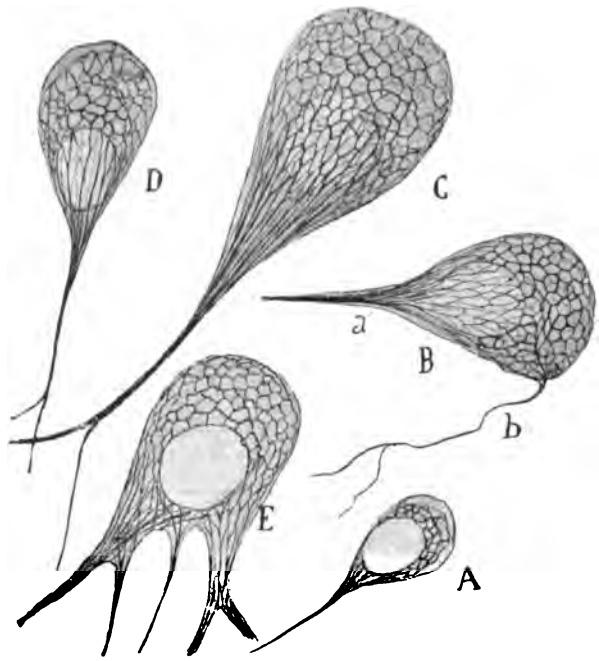


Fig. 4. — Diversos corpúsculos tomados de los ganglios del *Lumbricus*. Método del cloruro de oro. — A, pequeña monopolar; B, célula con dos expansiones; C, D, elementos grandes; E, corpúsculo multipolar.

ciente de Bochenek, relativa á los gasterópodos (1). No obstante, adviértense algunas diferencias. Así, las mallas se muestran más angostas que en los dibujos de este autor, no siendo raro distinguir dos órdenes de trabéculos: unos relativamente espesos, limitantes de espacios anchos, y otros más finos y pálidos, apenas perceptibles, inscritos dentro de la malla y generadores de más finos huecos. Nos ha parecido también que los trabéculos más espesos yacen encima del núcleo en el territorio ocu-

(1) *A. Bochenek*: Contribution à l'étude du système nerveux des Gasteropodes, &. *Le Neuraxe*. Vol. III, fasc. I, 1901.

pado por los conductos de Holmgren. En el cabo alto del soma se percibe, á veces, un limbo protoplásmico sin red ó surcado no más de tal cual trabéculo ó neurofibrilla suelta probablemente dispuesta en asa. En fin, en las células bipolares y multipolares, las neurofibrillas forman otros tantos conos de emergencia, perteneciendo el mayor y más rico en hebras al axon ó expansión eferente. Cuando, según se advertía en la célula B (fig. 4, B), existen dos expansiones, la dendrítica es más fina y puede emerger de la región supranuclear, formándose por convergencia de unos pocos hilos.

En ningún caso se observan esas recias redes perinucleares, peculiares de la sanguijuela. Aun en los corpúsculos más pequeños, el retículo, muy adelgazado (fig. 4, A), parece dispuesto en más de un plano. A cierta distancia, las dendritas se dividen, no siendo posible discernir, al nivel de las dicotomías, textura fascicular.

En resumen, según hace notar Apathy, la diferencia más importante que separa las neurofibrillas del *Lumbricus* de las del *Hirudo*, consiste en que en éste las fibrillas aferentes y eferentes marchan conjuntamente en un solo haz; mientras en el *Lumbricus* constituyen fascículos separados ó vías diferentes. Con todo, este contraste, verdadero en principio, tiene excepciones. De una parte, nuestros recientes trabajos demuestran la existencia, en el ganglio cefálico del *Hirudo*, de células bipolares, semejantes á las del *Lumbricus* (fig. 4) (1), sin contar con que en el gran simpático de aquel animal, Azoulay (2) ha encontrado neuronas multipolares genuínas; y de otra parte, hemos visto también en la lombriz neuronas francamente monopolares, en las cuales las hebras eferentes ó dendritas procedían de la única expansión. Parece indudable, pues, que entre ambas disposiciones se dan en los vermes todas las transiciones morfológicas, y que en estos animales, como en los ganglios raquídeos de los vertebrados, el fenómeno de la monopolaridad no implica mayor ni menor progreso morfológico, sino que es simple efecto de la dislocación y estiramiento del soma hacia la periferia, por acomodación mecánica al aumento del número de neuronas congéneres. Por este motivo, en la lombriz, las células cercanas al rafe, dispuestas en una sola hilera, suelen ser multipolares, mientras que son monopolares las diminutas de los lados, ordenadas en dos ó más hileras. Es claro que las situadas en la fila más periférica poseen el pedículo más estirado; en ellas, la multipolaridad se convirtió en monopolaridad, por haber quedado cerca de la *Punktsubstanz* aquella parte del protoplasma de donde brotan las expansiones. Sería muy interesante investigar las formas embrionarias de las neuronas

(1) Véase la Memoria siguiente, p. 287 (fig. 4).

(2) *Azoulay*: *Compt. rend. des séances de la Societé de Biol de Paris*, 1904.

del *Lumbricus*; nada nos extrañaría que semejante examen revelara la bipolaridad ó multipolaridad originaria (pasada la forma neuroblástica) de la mayoría de las neuronas.

Fibras conductrices.—El citado proceder de impregnación aúrica colorea también de violeta intenso las neurofibrillas de los tubos nerviosos, tanto en las vías comisurales y longitudinales de la cadena ganglionica, como en los nervios. Según se aprecia en la figura 3, las fibras de la región no celular del ganglio parecen formadas de una sola neurofibrilla de variable dimensión, rodeada de un limbo claro, correspondiente, sin duda, á la materia plasmática del axon. En la *Punktsubstanz* vénse divisiones y subdivisiones de neurofibrillas, pero no es posible sorprender ninguna anastomosis, lo que coincide con las observaciones de Lenhossék, Retzius y Havet.

Los tres tubos colosales de la región dorsal, descritos hace tiempo por Leydig (1), Friedländer, etc, estimados como representación de una especie de notocorda por Kowalemsky (2), se presentan en nuestros preparados como fibras nerviosas genuínas (fig. 3, *a*), dentro de las cuales se halla una sola y muy fina neurofibrilla. Particularidad muy interesante es que el tubo impar ó central, notablemente grueso, posea la más delicada neurofibrilla. En los tres, la citada hebra afecta un curso espiróideo y un aspecto perfectamente homogéneo. No hemos confirmado, pues, el aserto de Apathy, que admite en los tubos colosales (tubos notocordales de este autor) varias neurofibrillas, recias unas y finísimas otras. Como dicho sabio no da figura ninguna de los citados tubos, no podemos saber qué es lo que positivamente ha visto, y hasta qué punto sus preparados coinciden con los nuestros. Por lo demás, la exigüidad del contenido neurofibrilar de los susodichos conductores, muy inferior al de la mayoría de los axones comisurales y motrices, explica bien por qué los autores que trabajaron con los métodos de Golgi y Ehrlich dudaron de la naturaleza nerviosa de aquéllos.

Verosímilmente buscaron en los ganglios tres células, cuya dimensión gigantesca hiciera *pendant* con los tubos colosales, y al no encontrarlas pusieron en duda la naturaleza nerviosa de los mismos Nuestras investigaciones no permiten tampoco esclarecer enteramente el enigma, pero conocido el hecho de la extrema delgadez del eje neurofibrilar de los tubos colosales, nada nos sorprendería que, á la postre, éstos resultaran axones de pequeñas células del ganglio cerebroide y vinieran á representar algo así como la vía de los movimientos voluntarios del *Lumbricus*.

(1) *Fr. Leydig*: Vom Bau des thierischen Korpers. Bd. I. Tübingen, 1864.
(2) *A. Kowalewsky*: Embriologische Studien an Würmern u. Arthropoden.

VARIACIONES MORFOLÓGICAS

DEL

RETICULO NERVIOSO DE INVERTEBRADOS Y VERTEBRADOS

SOMETIDOS A LA ACCION DE CONDICIONES NATURALES

(NOTA PREVENTIVA)

POR

S. R. CAJAL

Los trabajos de Tello y los nuestros en los reptiles, los recientemente efectuados en los animales rábicos (Cajal y D. García) y las observaciones hace tiempo verificadas por nosotros en los animales recién nacidos, nos han persuadido de que el retículo celular sufre grandes transformaciones, al compás de las variaciones químicas y dinámicas del medio ambiente y del estado de actividad funcional fisiológica.

El relato circunstanciado de los experimentos y observaciones efectuados recientemente por nosotros en vertebrados é invertebrados con el fin de probar las citadas variaciones, verá la luz más adelante. Por ahora, vista la importancia del tema, séanos permitido anticipar algunos resultados no desprovistos de interés.

SANGUIJUELA (HIRUDO MEDICINALIS)

Diferentes lotes de animales han sido sometidos á las influencias siguientes: calor, frío, sobrealimentación, inanición, traumatismos, narcóticos y otras condiciones.

Estado normal.— Las sanguijuelas que han permanecido algunos días sin alimentarse en los laboratorios y se han conservado en agua de 8° á 10°, pueden considerarse como en estado normal y término de comparación para las experiencias que siguen.

En esta clase de animales, ni demasiado hambrientos, ni excesivamente extenuados, ni harto calientes, ni sobremanera fríos, el procedimiento del nitrato de plata revela, según expusimos en otro trabajo y han con-

firmado Azoulay y Nageotte, estos tres tipos celulares: *a) tipo* 1.° Células pequeñas con retículo denso, dispuesto en círculo ó capa perinuclear y formado por trabéculas gruesas, limitantes de mallas angostas y convergentes hacia el pedículo en un solo hilo conductor (fig. 1, B). *b) tipo* 2.° Células voluminosas que contienen extenso y flojo retículo, situado en un plano periférico y compuesto, bien de finísimos hilos (forma común), ya de más recios trabéculos (forma accidental) (D). *c) tipo* 3.° Elementos de talla mediana, cuya red aparece también dispuesta de preferencia en un plano perinuclear, pero afectando posición intermedia, es decir, ni tan cerca del núcleo como en los tipos pequeños, ni tan á distancia como en los tipos grandes. (fig. 1, A). Entran también en esta categoría

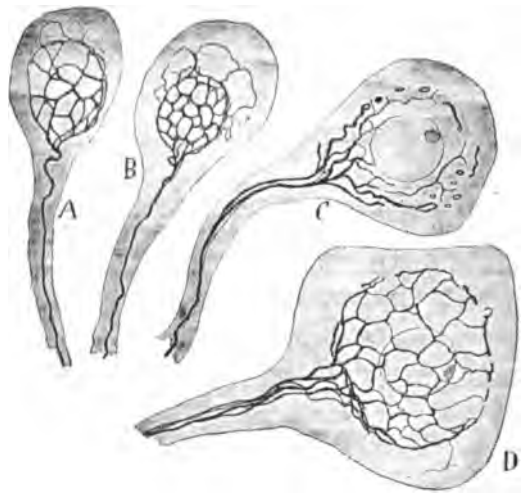


Fig. 1. — Neurofibrillas normales de la sanguijuela. Proceder del nitrato de plata reducido.

dos variantes: una de trabéculos gruesos, otra de trabéculos finos. En fin, de vez en cuando, pero con rareza cuando se trata de sanguijuelas recientes y no muy hambrientas, aparecen los retículos destructivos, de que trataremos más adelante (fig. 1, C).

Influencia del calor.—Cuando un lote de sanguijuelas normales, análogas á las precedentes, se someten durante doce horas á una temperatura de 30 á 35°, muchos animales suelen morir, después de mostrarse muy excitados. Los que sobreviven, estudiados por el procedimiento del nitrato de plata reducido (primera fórmula), presentan el retículo de las neuronas gangliónicas sumamente fino y pálido, en términos que cuesta trabajo percibirlo. Parece como que la casi totalidad de la materia argentófila haya sido consumida por la sobreactividad motriz. Nos ha parecido,

además, que la red es más rica y completa (tanto en las células grandes como en las pequeñas) que en el estado ordinario. En la fig. 2 mostramos los tres principales tipos celulares de la sanguijuela calentada. En el cabo grueso de la célula vénse los conductos de Holmgren como masas granulosas. En fin, el nucleolo, aunque excéntrico, no suele tocar la membrana nuclear.

Frío.—Otro lote de sanguijuelas sufrió durante dos horas una temperatura de 2 á 3° sobre 0. Las sanguijuelas retrajéronse y permanecieron como aletargadas, aunque no muertas, pues bastaba elevar dos ó tres grados más la cifra térmica para que recobraran sus movimientos.

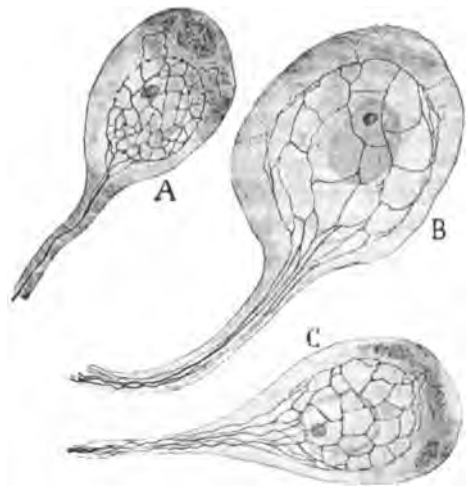


Fig. 2. — Células nerviosas de la sanguijuela sometidas durante doce horas á temperatura de 35°. El retículo es sumamente fino y pálido. (En la figura se presenta demasiado espesado).

Analizadas las neuronas, mostraron simple exageración del estado normal, es decir, un espesamiento general de las neurofibrillas. La coloración, sin embargo, fué algo pálida.

Sobrealimentación.—Varios lotes de sanguijuelas hambrientas fueron aplicadas á la piel de un perro; prendieron todas; llenáronse de sangre, y, cuatro días después, fueron sacrificadas y sometidas al método del nitrato de plata.

Las formas reticulares degenerativas, de que luego hablaremos, desaparecieron casi todas, así como las neurofibrillas gruesas. A la manera de las sanguijuelas calentadas, la red preséntase muy completa, pero delicada, pálida y difícil de seguir. En torno de las células, viéronse granulaciones morenas en bastante cantidad. Los conductos de Holmgren

tornáronse más ó menos aparentes al nivel del cabo grueso neuronal, traduciéndose como mancha de finas granulaciones.

En suma: el aspecto general de las redes recuerda el de las neuronas sobreactivadas por el calor, si bien nos han parecido algo menos finos los trabéculos. Diríase también que la materia argentófila ha sido en gran parte consumida durante el incremento funcional.

Inanición prolongada. — Las sanguijuelas conservadas vivas, durante dos ó más meses en el laboratorio, sin alimentación alguna, muestran una gran variedad de formas reticulares, que describiremos detallamente en otro trabajo. El hecho más importante, sobre el cual queremos llamar la atención, es *la degeneración y reabsorción parcial del retículo.*

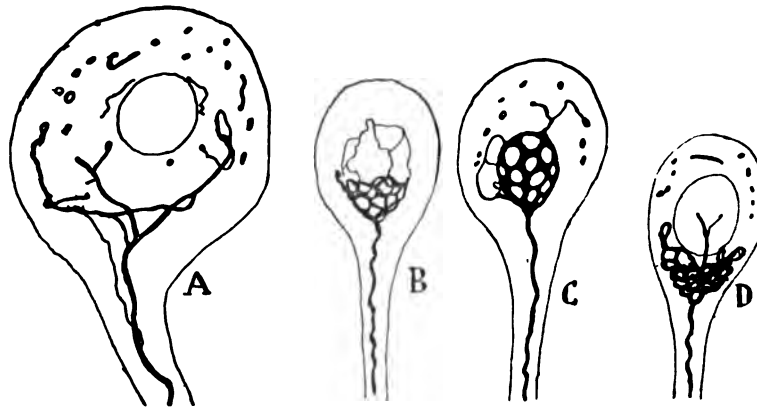


Fig. 3. — Neuronas de la sanguijuela en estado de inacción digestiva prolongada.— A, célula gigante con la porción superior de la red destruída; B, corpúsculo pequeño con hipertrofia de la parte inferior del retículo perinuclear; C, elemento con red hipertrofiada y algunas asas superiores destruídas; D, otra en la cual sólo ha quedado la porción cercana al pedículo, notablemente retraída y espesada.

Ciertamente, en las sanguijuelas recién pescadas ó en las alimentadas quince ó veinte días antes, puede hallarse tal cual retículo en vías de atrofia; pero esto es caso excepcional, mientras que en los animales sometidos á larga inanición hállanse á veces en tan singular estado cerca de la mitad de las neuronas de todos los ganglios, con inclusión del cefálico ó periesofágico (fig. 3, A, C, D).

He aquí en qué consiste el fenómeno. Los hilos del retículo comienzan á enreciarse, sobre todo en la porción inferior ó próxima al pedículo; no pocas anchas mallas se convierten en angostos agujeros y algunas asas antes amplias redúcense á ojales redondos abiertos en el cabo de fibras al parecer libres. En fin, toda la parte supranuclear del retículo se fragmenta, reduciéndose á bolitas negras, irregularmente diseminadas, ó á

segmentos cilíndricos semejantes á bacilos (fig. 3, A, D). Muy á menudo, en medio de los gránulos dispersos, encuéntranse pedazos de hilo y aun trocitos de red, completamente separados del resto del retículo neurofibrilar, que se mantiene muy hipertrófico y mutilado por debajo del núcleo. En las figuras 3 y 4, mostramos las fases y formas principales de este notable proceso.

Las referidas disposiciones han debido ser vistas por los autores que, como Azoulay y Nageotte, han aplicado al *Hirudo* el proceder del nitrato de plata reducido. Pero es muy posible que las atribuyeran á coloraciones incompletas y aun á diferencias en la intensidad de la impregnación (1).

Que semejantes disposiciones son preexistentes y no dependen de veleidades del método, lo persuaden los siguientes hechos: 1.° En toda célula con retículo incompleto, la región privada de hilos está salpicada de esferas argentófilas y de bacilos ó fragmentos de neurofibrillas. 2.° Estos bacilos y esferas argentófilas faltan en las neuronas de retículo completo y normal. 3.° Obsérvanse lo mismo en elementos débilmente teñidos que en los intensamente coloreados. 4.° Los cabos mutilados de la red subsistente (retículo en vías de destrucción) se presentan á menudo enreciados, á modo de palillos de tambor (fig. 3, A, C), como si la substancia argentófila se retrajera hacia la parte sana del retículo. 5.° Otros cabos también interrumpidos rematan en anillos y ojales, que representan verosímilmente mallas preexistentes encogidas (fig. 1, C). 6.° En fin, constantemente, alrededor de células de retículo destruído, encuéntranse neuronas con bellas y completas redes neurofibrilares, y esto en cualquiera dirección, es decir, ya por fuera, ya por dentro del corpúsculo en vías de atrofia ; lo que excluye las diferencias de acción del método en las diversas profundidades de la pieza, etc. Añadamos aún que, según hemos dicho, tales formas parecen abundar tanto más cuanto más tiempo lleva la sanguijuela privada de alimento (2).

Verosímilmente, cierta forma, también muy frecuente, reproducida en las figuras 4, C, y 3, B, y en la cual el retículo aparece dividido en dos polos perinucleares, uno inferior, sumamente hipertrófico, y otro superior, al parecer normal ó algo alterado, representa el primer estadio ó preparación del fenómeno degenerativo.

Por lo demás, los retículos, en proceso de reabsorción, muéstranse en

(1) Consultado durante la redacción de esta nota el Dr. Azoulay, nos contesta por carta que, en efecto, encontró más de una vez en el *Hirudo* retículos en los cuales la región supranuclear no se mostraba teñida.

(2) Sin embargo, para dar esta afirmación como definitiva, nos faltan experiencias suficientes.

todos los ganglios, incluso los del gran simpático (esófago), y tanto en las células pequeñas como en las grandes; y la disposición por qué, según el tipo celular atacado y la intensidad del proceso, se traduce la demolición neurofibrilar, afecta muchas variantes, de que trataremos en otro trabajo más circunstanciado.

En párrafos anteriores dejamos consignado que, aun en los animales normales ó casi normales, cada tipo celular exhibe dos fases ó estados, entre los que se notan todas las transiciones: *a*) retículo de recias trabéculas y angostas mallas (retículo denso); *b*) retículo de finas y escasas hebras, con amplísimas mallas (retículo flojo). Como quiera que la posición en los ganglios de estas dos modalidades neurofibrilares varía muchísimo en los diversos animales, y de hecho falta el *retículo denso* en las

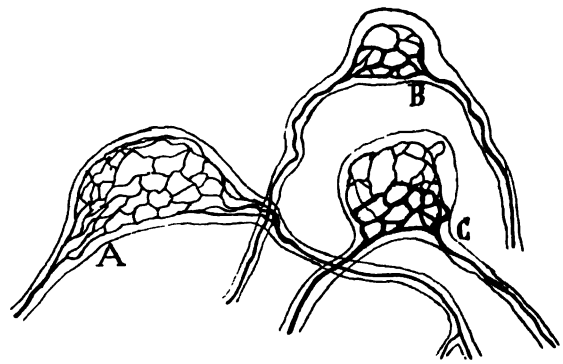


Fig. 4. — Células bipolares del lóbulo ó porción lateral del ganglio periesofágico de la sanguijuela. — A, elemento de red fina; B y C, corpúsculos cuyo polo reticular inferior hallábase hipertrófico.

sanguijuelas sobrealimentadas y en las sobrexcitadas por el calor, resulta muy verosímil, que ambas formas representen disposiciones pasajeras de carácter dinámico. En suma: estimamos probable que la célula de trabéculos gruesos corresponda al estado de reposo, y la de hilos finos á la fase de actividad. Mas este punto reclama aún más atento examen.

Sección de la cadena ganglionica.—Nuestro ayudante el Dr. Sánchez ha practicado extirpaciones de varios ganglios de la sanguijuela, así como secciones de la cadena nerviosa general. Casi siempre, por debajo de la sección, los ganglios mostraron disociación granulosa total de las neurofibrillas, que interesaba hasta las residentes en los haces conductores. Este aspecto granugiento aparecía más pronunciado en el cabo alto de la neurona que en el pedículo y más en los ganglios situados por delante de la sección que en los colocados por detrás. Tan curiosas experiencias, no

terminadas aún, serán objeto de una Memoria detallada, á cargo de nuestro ayudante.

En resumen: el armazón neurofibrilar de los invertebrados es sumamente variable. Degenera por causa de inanición prolongada y se regenera por la alimentación, y su materia argentófila parece consumirse por el sobretrabajo (excitación alimenticia, digestión intestinal laboriosa, etcétera) y repararse durante la inacción. Y en estos procesos varía no sólo la cuantía de la materia argentófila, sino la forma general de la red en que se modela.

Conejo y perro recién nacidos. — Hace un año que, al estudiar con el nuevo proceder los centros nerviosos de conejos, gatos y perros recién nacidos (y pichones también), fuimos sorprendidos, de vez en cuando, por el encuentro de ciertas neuronas cuyos retículos, en lugar de hilos finísimos y de diámetro uniforme, exhibían en ciertos sitios espesamientos fusiformes y aun grumos colosales que recordaban el aspecto de los grumos cromáticos de Nissl. Tales espesamientos, visibles de ordinario en los elementos más rezagados en evolución, han sido también confirmados por Marinesco en la médula del conejo recién nacido.

El parecido que tienen las referidas formas hipertróficas de las neurofibrillas con las descritas por nosotros en la rabia y con las halladas por Tello en los reptiles invernales, y la inconstancia con que se presentan en las preparaciones de los animales recién nacidos, nos han movido á estudiar cuidadosamente las condiciones de su aparición.

La primera conjetura que nos ocurrió fué atribuir dicho estado hipertrófico al retardo evolutivo de ciertas células, cuyo retículo, no modelado definitivamente todavía, encerraría reservas de la materia plástica generadora de las neurofibrillas. Pero semejante hipótesis hubo de ser prontamente descartada al ver que en ciertos conejos recién nacidos ó de pocos días faltaban por completo los referidos husos argentófilos. Es más, durante el verano último (1904), jamás se presentaron tales formas en el conejo y perro recién nacidos, ni siquiera en el embrión de pollo, á pesar de ser examinados en fases evolutivas relativamente tempranas.

Recientemente (principios de Diciembre), estudiando la médula y bulbo de un conejo de cuatro días, el fenómeno en cuestión volvió á presentarse, y con grandísima generalidad y energía, extendiéndose, en grado variable, á todas las células medulares. Admirados de tan extraño resultado y bien seguros de que no podía ser imputable á variaciones del método (fórmula 1.ª, tres días de estufa), comenzamos á sospechar si no sería acaso simple efecto de la temperatura. Pues es de advertir que en este último ejemplo el animal había permanecido, antes de ser utilizado, unos tres cuartos de hora en un cajón del Laboratorio, cuyo ambiente

oscilaría probablemente entre los 12 y 13° grados, calor inferior sin duda al del nido ó madriguera de que el conejo se sacó.

Para ver hasta qué punto la citada conjetura se confirmaba, emprendimos la siguiente experiencia:

De una camada de seis conejos de unos diez días hiciéronse cuatro lotes: dos animales fueron sometidos durante tres horas y media á 30° (estufa); uno se guardó en un cajón durante igual tiempo á temperatura de 10°; otro se abandonó en el aire libre del Laboratorio, que marcaba 15°; dos, en fin, extraídos á las tres horas de la estufa, fueron uno eterizado y otro cloroformizado.

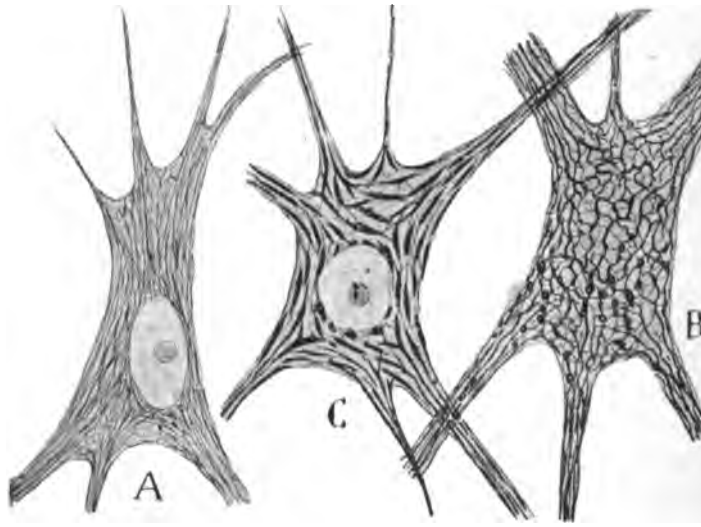


Fig. 5.—Células funiculares de la médula espinal del conejo de diez días.—A, neurofibrillas del conejo puesto en estufa; B. células funiculares negras con un principio de enreciamiento; C, célula funicular roja con neurofibrillas fusiformes y amplios espacios interfilares.

Las médulas de todos estos conejos se sometieron á técnica igual: *fórmula* 1.ª, es decir, acción del nitrato de plata al 1 50 por cuatro días (estufa á 30°), y reducción, por veinticuatro horas, en formol pirogálico.

Según era de presumir, la disposición de las neurofibrillas ofreció notables variaciones. Y estas variaciones, según podrá verse en la figura 5, son tan notorias y extraordinarias, que no pueden ofrecer la menor duda.

Los conejos sometidos á la acción del frío (temperatura de 10°) exhibieron en la médula, bulbo, etc., numerosas células con neurofibrillas espesadas y provistas de recios husos argentófilos (fig. 5, B, C).

Parecidos cambios, pero mucho menos acentuados, mostró el conejo mantenido en un ambiente á 15°.

En cambio, los animales guardados en estufa á 30° y que estaban singularmente vivaces y excitados, presentaron, en los mismos centros, neuronas con neurofibrillas no sólo normales, sino más finas y pálidas que las ordinarias. Notóse asimismo disminución de los espacios interfilares y cierto alargamiento y empequeñecimiento general del soma (fig. 5, A).

A semejanza de la sanguijuela, parece como que la sobreactividad provocada por el calor había consumido buena parte de la substancia argentófila (fig. 5, A). De ensanchamientos fusiformes, ni asomos.

En fin, los conejos eterizados y cloroformizados ofrecieron la misma disposición del retículo que los calentados. Los anestésicos no hicieron sino fijar la forma de actividad del retículo. Solamente en algún raro corpúsculo del eterizado se iniciaba ligero espesamiento neurofibrillar, lo que pudo depender de la excesiva duración del estado letárgico. Porque es de advertir que, antes de expirar el animal, permaneció más de quince minutos á 13°.

Estas experiencias se han repetido con perros recién nacidos, dando exactamente el mismo resultado.

No es nuestro ánimo estudiar aquí todas las formas de retículo producidas por las referidas condiciones experimentales. Limitarémonos por ahora á indicar las más interesantes, ó sean las debidas á la acción del frío.

En razón de su impresionabilidad térmica, pueden dividirse las células de la médula espinal, bulbo, protuberancia, etc., de los animales jóvenes, en tres categorías: células motrices, células funiculares grandes ó rojas, células funiculares medianas y pequeñas ó negras.

Las más sensibles al frío son las *funiculures grandes*. En ellas hay que buscar los recios husos y los cordones colosales (fig. 5, C). Las llamamos *rojas*, á ejemplo de Marinesco, porque en los animales recién nacidos y de pocos días, la *fórmula* 1.ª las impregna constantemente en rojo. Repárese en la figura 5, C, la magnitud del soma, la amplitud de los espacios claros interfibrilares, y, singularmente, los recios husos mostrados por todas las neurofibrillas, como si la mayor parte de la substancia argentófila esparcida por el retículo, se hubiera concentrado solamente en ciertos hilos. Verosímilmente, hay en este fenómeno tanto concentración y dislocación de materia, como fusión de hilos preexistentes.

Las *células funiculares medianas y pequeñas* suelen impregnarse en tono sepia ó negro: de ahí el nombre de *células negras*. Exhiben bellísimos retículos y los más apropiados para refutar á los partidarios de la independencia de las neurofibrillas. Menos sensibles á la acción del frío

que los corpúsculos anteriores, afectan, por lo común, tales elementos, amplios espacios interfibrilares y moderado enreciamiento de las neurofibrillas, particularmente en ciertos parajes (fig. 5, B). Con todo, en algunas células, el proceso se acentúa más, observándose ya husos cortos, pequeños, de color negro, que en ocasiones parecen aislados, á consecuencia del adelgazamiento y palidez de los filamentos de unión. De todas maneras, el retículo se ha simplificado por la desaparición de muchos hilos secundarios. En la figura 5, B, presentamos una célula negra, en donde comienzan los espesamientos fusiformes, con conservación de la pluralidad de los filamentos primarios y secundarios.

Las *células motrices* son menos impresionables que las funiculares rojas, pero se alteran constantemente. En todas ellas se reconoce que las neurofibrillas se han modificado, engendrando recios y semi-fusionados hacecillos, entre los cuales amplíanse los huecos destinados á los grumos de Nissl. Cuando la acción del frío se prolonga, pueden aparecer cordones macizos semejantes á los de la rabia. Hagamos notar, que las referidas metamorfosis se advierten, tanto en los preparados de la *primera fórmula* (sin fijación alcohólica), como en los obtenidos con la segunda y tercera (impregnación argéntica, previa fijación en alcohol solo ó alcohol amoniacal). Sin embargo, para el análisis del fenómeno conviene mejor la primera fórmula, no sólo por el tiempo que economiza, sino porque con ella lógrase poner en evidencia hasta el retículo de los más diminutos elementos funiculares. En cambio, para el estudio de los motrices es preferible la fórmula amoniacal.

El estado fusiforme é hipertrofia de las neurofibrillas, aparece ya sometiendo los animales de pocos días á la acción del frío (10°) durante una hora. Los elementos más precoces, tanto en el perro como en el conejo, son los funiculares grandes ó rojos. Si tras dos horas de enfriamiento, llévanse los animales á la estufa (tres horas), el estado fusiforme desaparece, restaurándose la primitiva arquitectura del retículo.

Los referidos hechos, ¿se observan también en los animales adultos? Hasta hoy sólo los hemos sorprendido en los animales recién nacidos y de pocos días, esto es, en los incapaces de contrarrestar por sí solos el excesivo frío del ambiente. En cuanto dichos mamíferos proveen por sí á su subsistencia y están protegidos por densa capa de pelo, las citadas metamorfosis dejan de presentarse. Así, en muchos cientos de preparaciones efectuadas en el conejo adulto (preparaciones hechas en su mayor parte en invierno), no aparece nada que recuerde las formas insólitas que acabamos de describir.

Sin embargo, fuerza es confesar que no hemos practicado experiencias sistemáticas para determinar, si, por lo menos en cierto grado, las neu-

ronas del conejo y perro adultos, son también capaces de modificar su arquitectura neurofibrilar bajo la influencia de un frío intenso. A la verdad, no nos sorprendería que una temperatura muy baja, asociada sobre todo á insuficiente alimentación, suscitara apreciables hipertrofias en las neurofibrillas, como no nos extrañaría tampoco que semejante alteración se desarrollara como fenómeno pre-agónico durante aquellas infecciones acompañadas de gran hipotermia (1). Al rebajamiento de las combustiones, y por ende, á efecto del frío provocado, podría atribuirse también la presencia de neurofibrillas gruesas, señalada por Marinesco en las anemias experimentales.

Estas y otras cuestiones, planteadas por los nuevos hechos, serán objeto de ulteriores investigaciones.

Por ahora, y después de lo expuesto, importa hacer notar que el retículo celular es un aparato sumamente impresionable á los cambios de temperatura y estados funcionales, y que durante la fase de actividad, las neurofibrillas, no sólo se presentan más finas y próximas, sino que exhiben menos cantidad de la materia argentófila ó coloreable por la plata. Añadamos aún, que el enreciamiento de las neurofibrillas se asocia en todos los animales á cierta torpeza, lentitud y dificultad de movimientos.

(1) Recientemente, en un perro muerto por envenenamiento arsenical crónico, y cuya agonía, acompañada de gran enfriamiento, duró varias horas, hemos sorprendido algunas células medulares y ganglionares raquídeas en la primera fase del citado proceso, es decir, con haces neurofibrilares condensados y como preparándose á fusionarse en cordones.

Madrid 30 de Diciembre de 1904.

RETURN TO → NATURAL RESOURCES LIBRARY
40 Gianinni Hall Tel. No. 642-4493

LOAN PERIOD 1	2	3
7 DAYS		
4	5 BOCC	6

ALL BOOKS MAY BE RECALLED AFTER 7 DAYS

DUE AS STAMPED BELOW

RECEIVED
SEP 04 1992

UNIVERSITY OF CALIFORNIA, BERKELEY
FORM NO. DD0, 50m, 1/82 BERKELEY, CA 94720

U.C. BERKELEY LIBRARIES
C023338484

QH301
M3
no. 3
232202
BIOLOGY
LIBRARY
Madrid
r3